

UNTERSUCHUNGEN DER HARNAKTIVITÄTEN DREIER LEITENZYME
DES PROXIMALEN TUBULUS DER NIERE ZUR FRAGE DER NEPHROTOXIZITÄT
VON CEPHACETRIL, CEPHALOTIN UND CEPHAZOLIN

DER ENZYMATISCHE UND IMMUNOLOGISCHE NACHWEIS DER
ALANIN-AMINO-PEPTIDASE IM URIN ALS PARAMETER
TOXISCHER NIERENSCHÄDIGUNGEN

MAX ZEGELMAN

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550820_0033

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang
Goethe-Universität Frankfurt am Main

Untersuchungen der Harnaktivitäten dreier Leitenzyme des
proximalen Tubulus der Niere zur Frage der Nephrotoxizi-
tät von Cephacetril, Cephalotin und Cephazolin

Der enzymatische und immunologische Nachweis der
Alanin-Amino-Peptidase im Urin als Parameter
toxischer Nierenschädigungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt
von
Max Zegelman
aus
Frankfurt

Frankfurt am Main 1978

Dekan: Prof. Dr. H. J. Müller
Referent: Prof. Dr. A. W. Mondorf
Korreferent: Prof. Dr. H. Knothe

Tag der mündlichen Prüfung: 30.11.1978



MEINEN ELTERN

Danksagung:

Herrn Prof. Dr. med. A. W. Mondorf, Leiter der Medizinischen Poliklinik und des Immunbiologischen Labors der Abteilung Nephrologie der Universitätskliniken Frankfurt am Main, danke ich an dieser Stelle herzlich für die Überlassung des Themas und für seine großzügige Unterstützung.

Herrn Dr. med. G. Mackenrodt, Universitätskliniken Frankfurt am Main, möchte ich für seine Beratung danken.

Frau H. Müller gebührt Dank für ihre Anleitung bei den enzymatischen Untersuchungsmethoden.

Frau B. Küssner danke ich für die Hilfe bei der Einarbeitung in die immunologische Methodik.

Herrn Dr. M. Kollmar bin ich für seine freundliche Beratung bei statistischen Problemen dankbar.

Frankfurt, im Januar 1977

UNTERSUCHUNGEN DER HARNAKTIVITÄTEN DREIER LEITENZYME DES
PROXIMALEN TUBULUS DER NIERE ZUR FRAGE DER NEPHROTOXIZI-
TÄT VON CEPHACETRIL, CEPHALOTIN UND CEPHAZOLIN

DER ENZYMATISCHE UND IMMUNOLOGISCHE NACHWEIS DER
ALANIN-AMINO-PEPTIDASE IM URIN ALS PARAMETER
TOXISCHER NIERENSCHÄDIGUNGEN

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

2. UNTERSUCHTE ANTIBIOTIKA

2.1. Die Cephalosporine - Historischer Überblick

2.2. Charakterisierung der drei Cephalosporinderivate

2.2.1. Cephacetril

2.2.2. Cephazolin

2.2.3. Cephalotin

3. VERSUCHSPERSONEN, VERSUCHSABLAUF, ANALYSEMETHODEN

3.1. Untersuchte Personen

3.1.1. Globale personelle Daten

3.1.2. Teilnahme Kriterien (Nierenfunktionsprüfung)

3.2. Versuchsaufbau

3.2.1. Neuntägige Versuchsreihe mit dreimaliger
Antibiotikaapplikation

3.2.2. Tagesprofil der Enzymurie: Kontrollgruppe -
Cephacetrilversuchsgruppe

3.3. Analysemethoden

3.3.1. Verarbeitung der 24 h-Urine aus den neuntägi-
gen Versuchen mit Cephacetril, Cephazolin
bzw. Cephalotin

3.3.2. Verarbeitung der 2-, 12- bzw. 14 h-Urinportio-
nen aus den Eintagesversuchen mit Cephacetril
und bei der Kontrollgruppe

- 3.3.3. Enzymatische Untersuchungen (kinetisch)
 - 3.3.3.1. Alanin-Amino-Peptidase (AAP)
 - 3.3.3.2. Gamma-Glutamyl-Transferase (gamma-GT)
 - 3.3.3.3. Alkalische Phosphatase (AP)
- 3.3.4. Elektroimmundiffusion
- 3.3.5. Färbemethoden
 - 3.3.5.1. Spezifische AAP-Färbung
 - 3.3.5.2. Unspezifische Proteinfärbung
- 3.4. Versuchsmodelle
 - 3.4.1. Versuchsmodelle zur Untersuchung der Beeinflußbarkeit der Enzymaktivität durch die Antibiotika in vitro
 - 3.4.2. Diurese und Enzyme: Versuch zur Abhängigkeit der Enzymausscheidung vom Urinvolumen
- 3.5. Bestimmung der Antibiotikarestaktivität im Serum
- 3.6. Statistische Methoden

4. ERGEBNISSE

- 4.1. Neuntägige Versuchsreihe mit dreimaliger Antibiotikaapplikation
 - 4.1.1. Normalwerte
 - 4.1.1.1. Normalwerte der kinetischen Aktivitätsbestimmung im Photometer
 - 4.1.1.1.1. Alanin-Amino-Peptidase (AAP)
 - 4.1.1.1.2. Alkalische Phosphatase (AP)
 - 4.1.1.1.3. Gamma-Glutamyl-Transferase (gamma-GT)
 - 4.1.1.1.4. Geschlechtsspezifische Vergleiche der kinetisch-photometrisch bestimmten Enzymnormalwerte
 - 4.1.1.2. Normalwerte der immunologischen Bestimmungen
 - 4.1.2. Auswirkung der Antibiotikaapplikation auf die Enzymurie
 - 4.1.2.1. Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase (AAP)
 - 4.1.2.1.1. AAP im Urin: Cephacetrilwirkung
 - 4.1.2.1.2. AAP im Urin: Cephazolinwirkung
 - 4.1.2.1.3. AAP im Urin: Cephalotinwirkung

- 4.1.2.2. Verhalten der alkalischen Phosphatase (AP)
 - 4.1.2.2.1. AP im Urin: Cephacetrilwirkung
 - 4.1.2.2.2. AP im Urin: Cephazolinwirkung
 - 4.1.2.2.3. AP im Urin: Cephalotinwirkung
- 4.1.2.3. Verhalten der gamma-Glutamyl-Transferase (gamma-GT)
 - 4.1.2.3.1. Gamma-GT im Urin: Cephacetrilwirkung
 - 4.1.2.3.2. Gamma-GT im Urin: Cephazolinwirkung
 - 4.1.2.3.3. Gamma-GT im Urin: Cephalotinwirkung
- 4.1.2.4. Immunologische Ergebnisse
- 4.1.2.5. Vergleich der kinetisch-photometrischen mit den immunologischen Ergebnissen
- 4.2. Tagesprofil der Enzymurie (AAP)
 - Gegenüberstellung: Kontrollgruppe - Cephacetrilversuchsgruppe
 - 4.2.1. Kontrollgruppe (kinetisch-photometrische Normalwerte)
 - 4.2.2. Cephacetrilversuchsgruppe
 - 4.2.2.1. Kinetisch-photometrische Analyse
 - 4.2.2.2. Immunologische Ergebnisse
 - 4.2.2.3. Vergleich der kinetisch-photometrischen mit den immunologischen Daten
- 4.3. Experimentelle Untersuchung der Beeinflußbarkeit der Enzymaktivität durch die Antibiotika in vitro
 - 4.3.1. Auswirkungen auf die kinetische Bestimmung
 - 4.3.2. Auswirkungen auf die immunologische Bestimmung
- 4.4. Diurese und Enzymurie
 - 4.4.1. Diurese und Enzymurie: Versuch zur Abhängigkeit der AAP-Ausscheidung vom Urinvolumen
 - 4.4.2. Diurese und Enzymurie: Korrelations- und Regressionsrechnungen mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe sowie den Leerwerttagen O_1 und O_2
- 4.5. Bestimmung der Antibiotikarestaktivität im Serum
- 4.6. Das Verhalten der Nierenfunktionsparameter unter Cephalosporinapplikation
- 4.7. Verträglichkeit

5. DISKUSSION

5.1. Diskussion der Methoden

5.1.1. Diskussion der Methoden: Probandenauswahl

5.1.2. Diskussion der Methoden: Technischer Ablauf des Versuchs

5.1.3. Diskussion der Methoden: Bestimmungsmethoden

5.1.3.1. Diskussion der Methoden: Kinetische Bestimmung der Alanin-Amino-Peptidase im Nativharn

5.1.3.2. Diskussion der Methoden: Immunologische Bestimmung der Alanin-Amino-Peptidase im Harnkonzentrat

5.1.3.3. Diskussion der Methoden: Kinetische Bestimmung der gamma-Glutamyltransferase und der alkalischen Phosphatase im Urinkonzentrat

5.1.3.4. Diskussion der Methoden: Beeinflußbarkeit der Enzymaktivität durch die Antibiotika in vitro

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1. Diskussion der Ergebnisse: Alkalische Phosphatase, gamma-Glutamyltransferase

5.2.2. Diskussion der Ergebnisse: Alanin-Amino-Peptidase

5.2.2.1. Diskussion der Ergebnisse: AAP-Normalwerte (Tage O_1 und O_2)

5.2.2.2. Diskussion der Ergebnisse: Diurese und Enzymurie (AAP)

5.2.2.3. Diskussion der Ergebnisse: Tagesprofil der Enzymurie

5.2.2.3.1. - Kontrollgruppe

5.2.2.3.2. - Cephacetrilversuchsgruppe

5.2.2.4. Diskussion der Ergebnisse: Neuntägige Versuchsreihe mit dreimaliger Antibiotikaapplikation (Tag 1 - Tag 7)

5.2.2.4.1. Cephacetrilstudie

5.2.2.4.2. Cephalotin- und Cephalazolinstudie

6. ZUSAMMENFASSUNG

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Der ubiquitäre Einsatz der Antibiotika in der Medizin begründet die Notwendigkeit, mögliche toxische Nebenwirkungen anhand empfindlich reagierender Parameter aufzuzeigen, um gegebenenfalls therapeutische Konsequenzen ableiten zu können.

Toxische Nierenschädigungen, welche sich überwiegend am tubulären System manifestieren, entziehen sich dem Kliniker in den ersten Phasen der Diagnostik, da die funktionellen Parameter erst nach einer gewissen Ausdehnung der Schädigung pathologische Werte zeigen.

Aus dieser Sicht war es der Arbeitsgruppe MONDORF ein Erfordernis, nach Größen zu suchen, die schädigende Einflüsse auf das tubuläre System der menschlichen Niere frühzeitig erkennen lassen. Der Bürstensaum des proximalen Tubulus schien dabei besonders geeignet, da in diesem Bereich hohe transmembranale Flußraten zu bewältigen sind und zu erwarten war, daß gerade hier sowohl toxische Einflüsse von der Urinseite und Blutseite her als auch entzündliche Alterationen von der Blutseite her sich manifestieren sollten.

Zum Nachweis und zur Charakterisierung solcher Membranantigene in der Niere wurden aus menschlichen Nierenrindenhomogenaten mit Hilfe der Differentialzentrifugation und nachfolgender Auftrennung in Dichtegradienten Bürstensaummembranen isoliert. Histochemisch konnte nachgewiesen werden, daß eine Reihe von Enzymen in der Membran des proximalen Tubulus lokalisiert sind. Fest im Stroma der Membran verankert findet sich eine alkalische Phosphatase (AP). Eine gamma-Glutamyltransferase (gamma-GT) ist teilweise fest in der Membran verankert und teilweise in den oberflächlichen Teilen lokalisiert. Eine Alanin-spezifische Amino-peptidase (AAP) läßt sich von der Oberfläche durch Papain leicht abdauen und scheint mit der Matrix der Membran weniger stark verbunden zu sein.

Diese drei Enzyme sind sogenannte Leitenzyme des proximalen Tubulus, und ihre Anreicherung nach Differentialzentrifugation und in Dichtegradienten ist ein Maß für den Gehalt an Membranproteinen in diesen Fraktionen (149,214,215,216).

Nach Solubilisierung der Enzyme durch Papainbehandlung der Membranen konnten mit Hilfe von Referenzsubstanzen Molekulargewichtsbestimmungen durchgeführt werden. Dabei ergab die so artifiziell gewonnene AAP ein Molekulargewicht von 240.000, die AP von 200.000 und die gamma-GT von 126.000. In der Concanavalin-A-Affinitätschromatographie erschien die Alanin-Aminopeptidase im Desorbat und war somit ein Glykoproteid (217).

Neben dem histochemischen Nachweis der AAP in den verschiedenen Nierenschnitten konnte mit Hilfe von Antiseren von Kaninchen, die mit Bürstensaummembranen immunisiert wurden, eine luminale Fluoreszenz im Bereich des proximalen Tubulus erzeugt werden.

In der Diskelektrophorese ist die Wanderungsgeschwindigkeit einer aus der Gesamtniere isolierten AAP (Prof. G. PFLEIDERER, Stuttgart) mit der durch Papainandauung von isolierten Bürstensaummembranen gewonnenen identisch. Mit dem Antibürstensaum-Antiserum läßt sich im Überstand nach Papainandauung noch eine ganze Reihe anderer Proteine erkennen. Das schärfste und intensivste Präzipitat ist durch enzymatische Färbung mit DL-Alanin-beta-Naphthylamid eindeutig der Alanin-Aminopeptidase zuzuordnen.

Nach diesen Voruntersuchungen wurden Harnkonzentrate von Patienten mit Nierenerkrankungen untersucht. Im Falle einer akuten tubulären Nekrose wurden im 24-Stundenharn bis zu 400.000 mU/24 h AAP ausgeschieden. Der Vergleich dieses Harnkonzentrates mit dem Überstand nach Papainbehandlung ergab eine immunologische Identität.

Das Ausmaß der Elimination von Membranenzymen war bei den einzelnen Erkrankungen unterschiedlich. Am stärksten stellte sich die Ausscheidung der AAP bei tubulären Nekrosen, die im Anschluß an operative Eingriffe auftraten, dar. Das Ausmaß der Enzymurie war im Verlaufe und nach Operationen eindeutig von der Operationsdauer abhängig. Bei Herzoperationen stieg die AAP-Ausscheidung bis zu 14.000 mU/24 h an. Die Messung dieser Ausscheidung erfolgte immunologisch mit einem AAP-Standard. Enzymurien, die das Ausmaß tubulärer Nekrosen erreichten, wurden unter der Behandlung mit Zytostatika gesehen. So konnten unter einer Cytosin-Arabinosid-Behandlung AAP-Aktivitäten bis zu 103.000 mU/24 h gemessen werden. Vergleichsweise waren die übrigen Enzyme AP und gamma-GT in ihren Aktivitäten deutlich niedriger.

Der hohe Anteil der membrangebundenen AAP an der Ausscheidung scheint für die tubuläre Schädigung der Niere charakteristisch. Im Gegensatz dazu steht die Ausscheidung von enzymatisch aktiven Membranteilen im Harn bei entzündlichen Erkrankungen der Niere. Glomerulonephritiden, die bioptisch neben den glomerulären Veränderungen noch eine interstitielle Beteiligung zeigten, ergaben Ausscheidungen von gamma-GT bis zu 50.000 mU/24 h, während die AAP-Ausscheidung bei etwa 13.000 mU/24 h lag und die AP unter 10.000 mU/24 h. Im Verlauf von Nierentransplantationen war es möglich, das Verhalten der drei Enzyme AAP, AP und gamma-GT im Harn zu verfolgen. Dabei zeigte sich, daß während der Abstoßungsreaktion eine eindeutige Elimination dieser Enzyme erfolgt, wobei auch in dieser Phase mit dem Antibürstensaum-Antikörper die AAP präzipitiert werden konnte. Die Unterscheidung "Abstoßungsreaktion" und "tubuläre Nekrose" war mit Hilfe des Musters der Enzymelimination sehr sicher zu stellen (143, 145, 146, 147, 148, 151, 152).

In letzter Zeit wurden akute Nierenversagen nach Behandlung mit der Kombination von Cephalosporinen und Aminoglykosiden und auch bei gleichzeitiger Verabfolgung von schnell wirken-

den Diuretika beschrieben (20, 32, 57, 58, 96, 97, 168, 173, 227). Von anderer Seite wurden solche Auswirkungen in Zweifel gezogen (9, 50, 54, 234, 235, 265). Die nephro- und ototoxische Wirkung von Aminoglykosiden ist Gegenstand zahlreicher Publikationen (53, 105, 256, 257). Unklar blieb hierbei die Rolle der Cephalosporine beim akuten Nierenversagen.

Auch unter alleiniger Cephalotintherapie konnte ein gehäuftes Auftreten von Nierenfunktionseinschränkungen bis hin zur akuten tubulären Nekrose beobachtet werden (15, 28, 34, 154, 175, 182, 191, 219).

Verschiedene Tierversuche dokumentieren morphologische Veränderungen besonders am proximalen Tubulus nach Cephalosporinapplikation, wobei das bekanntermaßen nephrotoxische Cephaloridin deutliche Schäden schon in vergleichsweise geringer Dosierung auszulösen vermochte (18, 46, 109, 113, 120, 177, 211, 224, 243).

TERHORST et al. beschrieben beim Menschen deutliche Schäden der Hauptstückepithelien besonders proximal incl. dem Bürstensaum unter Cephaloridintherapie (243).

Auch SILVERBLATT et al. konnten im Tierexperiment demonstrieren, daß Cephaloridin eine dosisabhängige Schädigung des proximalen Tubulus bewirkt. Demgegenüber erschienen die Auswirkungen des Cephazolin geringer, sehr fein schließlich beim Cephalotin (224).

PERKINS et al. beschrieben nach Cephalotin-Injektionen beim Kaninchen minimale Schwellung oder hydrophische Veränderungen der Epithelien des proximalen Tubulus, wobei die Funktion der Zellen noch unbeeinträchtigt blieb (177).

Eine Verstärkung nephrotoxischer Wirkungen des Cephalotin durch Furosemid im Tiermodell wurde von LINTON et al. angeführt (120).

SACK et al. wiesen anhand von Enzymurie und Nierenepithelienexkretion bei Ratten nach, daß die nephrotoxische Potenz der neuen Derivate Cephazolin und Cephradine im Nierenverträglichkeitsspektrum zwischen Cephaloridin einerseits und Cephalotin resp. Cephacetril andererseits angesiedelt war (211).

Das Verhalten des Serumkreatinins wurde bei Ratten mit Nierenteilresektion nach Cephalotinapplikation von VENUTO untersucht. Er konnte keinen weiteren Kreatininanstieg feststellen (248).

HAUTMANN vermochte selbst nach Applikationen von 1000 mg Cephalotin pro kg KG bei Kaninchen keine Funktionsstörung der Niere zu erkennen. Histologisch fand er allerdings unabhängig von der applizierten Cephalotindosis (100-1000 mg/kg KG als Tagesdosen) diskrete glomeruläre Veränderungen in Form einer geringen Proliferation des Mesangiums und einer herdförmigen Schwellung der Podozyten. Mit Ausnahme von Eiweißtröpfchen im Epithel war der Tubulusapparat unverändert. Gentamycineinsatz führte dagegen zu dosisabhängigen Nierenfunktionseinschränkungen und tubulären Schäden (68).

Beobachtungen des Harnstoff-N im Blut bei einem klinischen Krankengut erbrachten keinen Anhalt für eine meßbare synergistische Wirkung zwischen Cephalotin und Gentamycin bei der Verursachung renaler Funktionseinschränkungen (55).

Es erschien auf Grund der oben angeführten Aspekte wichtig, eventuelle nephrotoxische Nebenwirkungen des Cephacetrils sowie in zwei kleineren Ergänzungsstudien die des Cephazolins und des Cephalotins beim Menschen anhand der hochempfindlichen, spezifischen und für den Probanden risikofreien Methode der Arbeitsgruppe MONDORF zu untersuchen.

2. UNTERSUCHTE ANTIBIOTIKA

2.1. Die Cephalosporine - Historischer Überblick

Der Grundstein aller Forschungsarbeit über Cephalosporine wurde im Jahre 1945 von Guiseppe BROTZU gelegt. Er isolierte aus dem Nährboden des von ihm entdeckten Cephalosporium-Pilzes *Cephalosporium acremonium* eine antibiotisch wirksame Substanz, deren erfolgreiche klinische Anwendung bei parenteraler Applikation er drei Jahre später publizierte.

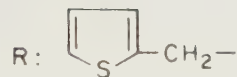
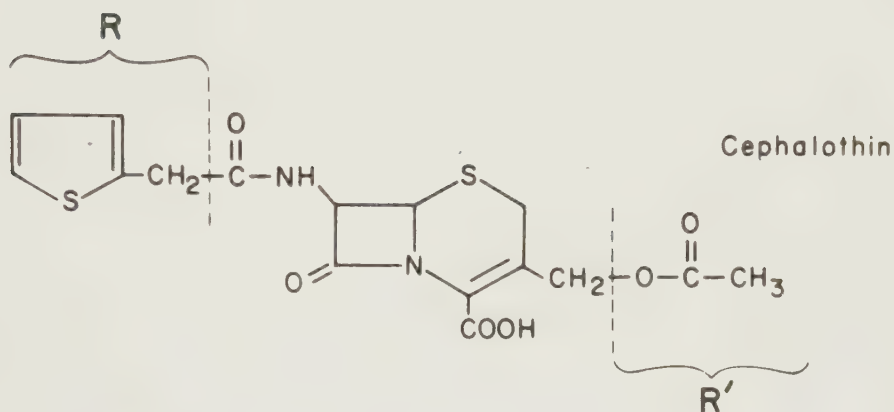
Den nächsten wichtigen Schritt vollzog ABRAHAM 1955 zu einer Zeit, als Methicillin, das erste penicillinaseresistente Penicillin, noch nicht verfügbar war und Staphylokokkenkrankungen ein ernstes Problem bei der Infektionsbekämpfung darstellten. Es gelang ihm nämlich, drei verschiedene Antibiotika aus den Kulturmedien des *Cephalosporium acremonium* zu isolieren: das Cephalosporin P (Steroid-Antibiotikum), das Cephalosporin N (6-Amino-Penicillansäure-Antibiotikum) und schließlich das Cephalosporin C, welches auf Grund seiner Widerstandskraft gegen Staphylokokkenpenicillinase einen großen Anklang in Forscherkreisen auslöste.

Die Bemühungen, das Grundgerüst in der chemischen Struktur von Cephalosporin C darzustellen, wurden durch die von MORIN et al. entdeckte chemische Methode zur Freilegung der 7-Amino-Cephalosporansäure (7-ACS) aus Cephalosporin C von Erfolg gekrönt. Der erste Schritt zur Entwicklung von auf dieser Grundstruktur basierenden Derivaten war getan. Es entstanden Cephalotin und kurz darauf Cephaloridin als erste klinisch einsetzbare Antibiotika dieser Reihe.

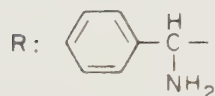
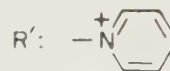
In der Folge wurde eine ganze Serie, u.a. auch oral anwendbare Cephalosporinderivate auf dem 7-ACS-Gerüst syntheti-

siert. Das Cephacetril zeigt eine nahe strukturelle Verwandtschaft zum Cephalotin, Cephalozin dagegen weist schon eine stärkere Abweichung auf (2,3,6,26,64,70,95).

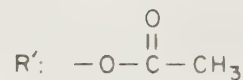
Formeln verschiedener Cephalosporinderivate:



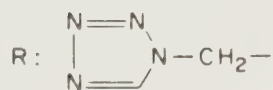
Cephalexin



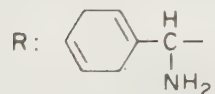
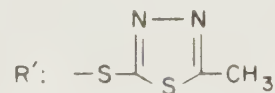
Cephaloglycine



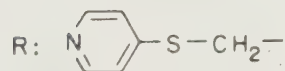
Cephalexin



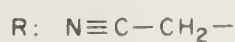
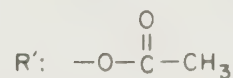
Cefazolin



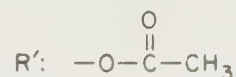
Cephradine



Cephalothin



Cephacetril



2.2. Charakterisierung der drei Cephalosporinderivate

Cephalotin, Cephacetril und auch Cephazolin sind ausschließlich parenteral anwendbar. Die große Ähnlichkeit auch ihrer Grundstruktur, der 7-ACS (7-Amino-Cephalosporansäure), mit dem chemischen Grundgerüst der Penicilline, der 6-APS (6-Amino-Penicillansäure), deutet bereits auf Analogien im Wirkungsspektrum und -mechanismus der Cephalosporine und der Penicilline hin. Beide Antibiotikagruppen interferieren mit der Zellwandbiosynthese wachsender empfindlicher Bakterien, indem sie die Verknüpfung von Zellwandbausteinen mit dem Wandpolymer blockieren (Transpeptidierungsreaktion) (35, 51, 52).

2.2.1. Cephacetril

Cephacetril - chemische Daten

Cephacetril ist die Bezeichnung für das Natriumsalz der 7-Cyan-acetyl-amino-cephalosporansäure. Cephacetril besitzt die Summenformel $C_{13}H_{12}N_3NaO_6S$ und ein Molekulargewicht von 361,31. Die Substanz liegt in Pulverform vor, löslich in Aqua dest. bzw. 0,9 %iger Kochsalz- oder 5 %iger Glukoselösung. Als pH-Wert einer 3 %igen - 30 %igen Lösung wird 4-5 angeführt (35).

Cephacetril - mikrobiologisches Wirkungsspektrum, Indikationen

In umfangreichen Studien wurde über die antibiotische Potenz des Cephacetrils berichtet (22,23,35,49,71,76,77,80,101,103,108,109,116,117,118,123,130,135,139,153,161,167,174,199,200,203,205,206,207,208,231,232,251,254,261,263,265,266).

Das antibakterielle Spektrum ist qualitativ und quantitativ dem Cephalotin und Cephaloridin ähnlich (108). Besonders aufgeführt sei die Wirkung auch gegenüber penicillinresistenten bzw. penicillinasebildenden Staphylokokkenstämmen sowie den

Streptokokken (Strept. pyogenes, Strept. viridans). Diplococcus pneumoniae, E. coli, Haemophilus pertussis, Klebsiella pneumoniae und Proteus mirabilis erweisen sich ebenfalls als Cephacetril-empfindlich. Die Mehrzahl der Stämme von Enterokokken werden wie auch Haemophilus influenzae oftmals erfaßt. Resistent sind Aerobacter, die Indol-positiven Proteus species, Pseudomonas aeruginosa, Moraxellen und Serratia.

Als minimale Hemmkonzentrationen werden für sensible grampositive Keime 0,1-0,4 µg/ml, für empfindliche gramnegative Keime 3-15 µg/ml angegeben (35).

Indikationen für Cephacetril können sich bei folgenden Infektionskrankheiten ergeben: Infektionen des Respirationstraktes und im HNO-Bereich (23, 49, 153, 167, 254), Knochen- und Gelenkinfektionen (71), Urogenitalinfektionen (109, 174, 254, 261), Peritonitis, Infektionen der Haut und des Weichteilgewebes, bakterielle Meningitis (116, 117, 118, 123, 135, 136, 232), bakterielle Endokarditis, septischer Abort und Sepsis (35).

Cephacetril - Pharmakokinetik

Stellt man Daten parenteraler Applikationsformen gegenüber, so erhält man bereits 10 Minuten nach intramuskulärer Injektion bakterizid wirksame Serumkonzentrationen mit Maximalwerten nach 40-60 Minuten. Für die intravenöse Gabe von 1 g Cephacetril ist der Spitzenwert im Serum bereits nach 5 Minuten erreicht. Unterschiede zwischen den Serumspiegeln nach i.v. oder i.m. Medikation finden sich nur innerhalb der ersten Stunde (35, 48).

Cephacetril ist liquorgängig und passiert die Plazentarschranke (73, 74, 116, 117, 123, 135, 232, 263). Auch in Galle, Prostata und Knochen konnte die Substanz nachgewiesen werden (22, 71, 130).

Die Eiweißbindung im Serum liegt bei therapeutischen Konzentrationen im Bereich zwischen 23-34 %. Die Serumhalbwertszeit nach i.v. Applikation dauert 60 Minuten (35).

Mannigfaltige Studien erbrachten theoretische Modelle und Aussagen über den Metabolismus und die Elimination von Cephacetril (6, 24, 25, 43, 44, 45, 48, 124, 130, 137, 139, 155, 156, 166, 189, 198, 258, 260, 262).

Nur ein geringer Prozentsatz wird nach Metabolisierung in mikrobiologisch nichtaktiver Form eliminiert. Eine normale Nierenfunktion vorausgesetzt, darf nach i.m. oder i.v. Medikation von 1 g Cephacetril mit einer Ausscheidung von mehr als 70 % der Dosis (mikrobiologisch aktiv) in den ersten 8 Stunden gerechnet werden (35).

WISE (262) vermochte in den ersten 6 Stunden 87,4 % und 90,6 % nach 24 Stunden im Urin nachzuweisen. DVORACEK dokumentierte, daß nach i.v. Injektion von 1 g Cephacetril bereits 2 Stunden später über 60 % in den Urin eliminiert und dort darstellbar waren. Als renaler Ausscheidungsmodus ist neben der glomerulären Filtration auch die durch Probenecid zu verzögernde tubuläre Exkretion anzusprechen (48, 124, 155, 258, 260, 262).

Hieraus geht deutlich hervor, daß die Ausscheidung des Cephacetril sehr stark von der Nierenfunktion abhängig ist. Zur Beurteilung wird besonders die endogene Kreatinin-Clearance herangezogen, da sich mathematisch die Eliminationsrate als Funktion der endogenen Kreatinin-Clearance mit hyperbolischem Zusammenhang darstellen läßt (6, 25, 45, 189, 198, 233, 258).

2.2.2. Cephazolin

Cephazolin - chemische Daten

Beim Cephazolin handelt es sich um das Natriumsalz der 3- {[(5-Methyl 1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thio] -methyl} -8-oxo-7- [2-(1H-tetrazol-1-yl)-acetamido] -5-thia-1-aza-bicyclo

[4.2.0] oct-2-en-2-carbonsäure. Die Summenformel lautet $C_{14}H_{13}N_8O_4S_3Na$, sein Molekulargewicht beträgt 476,5. Als Natriumgehalt wird 48,3 mg/g angegeben. Das Cephazolin wird als in Wasser leicht lösliche Trockesubstanz angeboten. Zur Aufbereitung eignet sich ebenso physiologische Kochsalz- bzw. 5 %ige Glucoselösung. Ein pH-Wert von 5-6 stellt sich nach Auflösung von 1 g in 4 ml Wasser ein (52).

Cephazolin - mikrobiologisches Wirkungsspektrum, Indikationen

In einer Vielzahl von Veröffentlichungen sind bisher anti-biotische Wirksamkeit und klinische Erfahrungen dokumentiert (1, 4, 16, 36, 37, 56, 60, 63, 69, 75, 81, 83, 86, 87, 88, 90, 91, 101, 111, 128, 133, 140, 142, 157, 158, 159, 160, 164, 165, 171, 172, 180, 181, 183, 184, 190, 192, 196, 197, 201, 209, 212, 220, 221, 222, 223, 225, 240, 241, 246, 247, 264).

Die bakterizide Wirkung des Cephazolin ist ähnlich der des Cephalotin. Gegen Staphylokokkus aureus, Proteus mirabilis und Proteus vulgaris sind beide gleichwertig. Eine deutlich höhere Potenz zeigt Cephazolin gegenüber E. coli, Klebsiella und Enterobacter (90, 225). Cephazolin erfaßt ein breites Spektrum an grampositiven und gramnegativen Keimen. Pseudomonas aeruginosa ist resistent (52). Die minimalen Hemmkonzentrationen liegen für Staphylokokkus aureus bei 0,78 µg/ml, für E. coli und Klebsiella bei 1,56 µg/ml und für Proteus bei 6,25 µg/ml (36).

Cephazolin kann bei folgenden Infektionen angezeigt sein: Infektionen im HNO-Bereich (87, 240), der Atemwege (56, 60, 128, 181, 190, 246), der Nieren und Harnwege (16, 37, 60, 81, 111, 171), der Gallenwege (192), der Haut (241), des Weichteilgewebes (181), gynäkologische Infektionen (36), Knochen- und Gelenkinfektionen (181).

Cephazolin - Pharmakokinetik

In umfangreichen Studien wurde Datenmaterial über die Pharmakokinetik des Cephazolin gesammelt (4, 21, 36, 39, 60, 65, 82, 90, 92, 102, 107, 114, 121, 131, 158, 159, 162, 164, 193, 195, 201, 213, 226).

SIMON (225) stellte vergleichend Serumkonzentrationen in zeitlicher Folge nach Applikation von 1 g Cephalotin bzw. 1 g Cephazolin i.v. dar. Nach 1 Stunde waren durchschnittlich noch 52,1 μ g Cephazolin/ml Serum nachzuweisen (Cephalotin: 2,9 μ g/ml), nach 2 Stunden noch 23,0 μ g/ml (Cephalotin: 0,6 μ g/ml) und schließlich nach 6 Stunden noch 5,6 μ g Cephazolin/ml (Cephalotin $< 0,1$ μ g/ml). GOLD führte analoge Untersuchungen durch und erzielte 1 Stunde nach einer Injektion von 1 g i.v. einen Serumspiegel von 64 μ g Cephazolin/ml bzw. nach 30 Minuten von 26 μ g Cephalotin/ml (60).

Die Studien zeigen, daß Cephazolin länger anhaltende und höhere Serumspiegel erbringt als Cephalotin (39, 60, 65, 90, 201) CHO (CHANG) untersuchte die Serumspiegel im Anschluß an i.m. Injektionen von 500 mg Cephazolin. Er fand nach 1 Stunde 35,5 μ g/ml und 5,8 μ g/ml nach 12 Stunden (36).

Die Eiweißbindung liegt nach NAUMANN zwischen 63 % und 73 %. Der Mittelwert beträgt 69,3 %. Als durchschnittliche Eliminationshalbwertszeit bei Patienten mit normaler Nierenfunktion nennt er ca. 120 Minuten (158, 159). KIRBY fand hier 1,8 Stunden (92).

Die Ausscheidung des Cephazolin geschieht hauptsächlich über die Nieren in unveränderter biologisch aktiver Form. Als Modi sind dabei glomeruläre Filtration und tubuläre Exkretion anzusprechen (36, 39, 60, 90, 114, 225). Letztere kann durch Probenecid verzögert werden (92). Innerhalb von 24 Stunden werden so 70-80 % des Cephazolin in den Urin eliminiert (36, 52, 60, 90). Untersuchungen von KIRBY und SIMON erbrachten

sogar eine Ausscheidungsrate von über 90 % (92,225). Soll also die Kumulation von Cephazolin bei eingeschränkter Nierenfunktion verhindert werden, ist eine Anpassung der Dosierung erforderlich (39, 43, 45, 114).

2.2.3. Cephalotin

Cephalotin - chemische Daten

Mit Cephalotin, dem Natriumsalz der 7-(Thiophenyl-2-acetamido)cephalosporansäure wird ebenfalls ein Abkömmling des Cephalosporin C untersucht. Cephalotin wird als Trockensubstanz, aufzubereiten mit Aqua dest., 5 %iger Traubenzucker- oder physiologischer Kochsalzlösung, angeboten. Es besitzt ein Molekulargewicht von 418,4. Sein Natriumanteil beträgt 55 mg/g. Durch Herstellung einer wässrigen Lösung wird ein pH-Wert von 5,2 erreicht (51).

Cephalotin - mikrobiologisches Wirkungsspektrum, Indikationen

Von vielen Autoren wurden bereits Studien über die klinische Anwendung und das Wirkungsspektrum des Cephalotin publiziert (5, 14, 17, 27, 33, 38, 40, 41, 50, 54, 60, 61, 66, 71, 79, 83, 93, 94, 95, 101, 110, 119, 122, 125, 132, 134, 138, 158, 159, 169, 174, 178, 180, 181, 183, 194, 201, 202, 203, 204, 206, 208, 212, 225, 229, 230, 231, 237, 242, 245, 251, 254, 255, 259, 260).

Die bakterizide Wirkung des Cephalotin ist ähnlich der beider vorhergenannter Cephalosporinderivate, Cephacetril und Cephazolin, einzuschätzen (90,225) (siehe auch 2.2.2.). Sie erstreckt sich auf ein breites Feld grampositiver und gramnegativer Erreger. Die Penicillinaseresistenz des Cephalotin wurde als gemeinsames Charakteristikum der 7-ACS-Abkömmlinge dargelegt. Vergleichende Untersuchungen in vitro mit Cephalotin und Cephacetril stufen Cephalotin als wirksamer gegen 40 Stämme von Proteus, dagegen als weniger effektiv gegen 50 E. coli-Stämme

ein (174). Resistent erweisen sich Pseudomonas und indolpositive Proteuspecies.

Bei der Indikationsstellung ergeben sich zum Teil in Analogie zu den anderen beiden Vertretern der Cephalosporinantibiotika folgende Gebiete: Infektionen des Respirationstraktes (51), des Urogenitaltraktes (38, 51, 54, 125, 225), des Magen-Darm-Traktes (51), des HNO-Bereichs (51), des Haut-, Knochen- und Weichteilgewebes (33, 51, 169), im Bereich der Inneren Medizin (50, 51, 119, 138, 191, 259), der Chirurgie (17, 40, 41, 51, 61, 229, 242), der Gynäkologie (5, 51), der Pädiatrie (51, 181, 254) der Urologie und bei septischen Erkrankungen (51, 119, 212, 245, 259).

Cephalotin - Pharmakokinetik

Bezüglich der Serumkonzentrationen des Cephalotin sei auf Abschnitt 2.2.2. verwiesen. Dort wurde aufgezeigt, daß nach äquivalenten Dosen von Cephalotin und Cephazolin die totalen Serumspiegel des ersteren deutlich niedriger und auch kürzer anhaltend waren. Dies läßt sich u.a. auch aus der größeren Proteinbindung des Cephazolin gegenüber dem Cephalotin (65,2%) ableiten (39). KIRBY definiert die Proteinbindung des Cephalotin mit 65 % und führt als Halbwertszeit wie OPITZ 30 Minuten an (nach SIMON 27 Minuten) (92, 174, 225).

Der Hauptausscheidungsweg des Cephalotin verläuft wie beim Cephacetril und Cephazolin über die Nieren. Neben der unveränderten mikrobiologisch aktiven Form wird aber ein durch eine weit verbreitete Acetylerase in Position 3 deacetylierter Metabolit des Cephalotin mit geringer antibiotischer Aktivität in den Urin ausgeschieden (39, 70). Glomeruläre Filtration und durch Probenecid verzögerbare tubuläre Sekretion liegen auch hier der Elimination zugrunde (95). GOLD beziffert die ausgeschiedene Menge in 24 Stunden nach 1 g i.v. mit 50,2 %. KIRBY wies 52 % nach, SIMON 64 % (60, 92, 225). Eine Einschränkung der Nierenfunktion macht eine Modifizierung der Dosierung nötig (78).

3. VERSUCHSPERSONEN, VERSUCHSABLAUF, ANALYSEMETHODEN

3.1. Untersuchte Personen

3.1.1. Globale personelle Daten

Die Untersuchungen wurden an 31 freiwilligen gesunden Versuchspersonen ohne Nierenfunktionseinschränkungen im Alter zwischen 18 und 52 Jahren durchgeführt. Das Durchschnittsalter betrug 25,4 Jahre. 11 Probanden waren weiblichen, 20 männlichen Geschlechts. 4 Personen nahmen nach mehrmonatigem Intervall nochmals teil.

3.1.2. Teilnahmekriterien (Nierenfunktionsprüfung)

Um eine Nierenfunktionseinschränkung auszuschließen, wurden die Konzentrationen von Kreatinin und Harnstoff im Serum sowie die endogene Kreatinin-Clearance bestimmt (Zentrallabor des Zentrums der Inneren Medizin und der Chirurgie der Universitätsklinik Frankfurt/Main. Methoden: Kreatinin nach POPPER modifiziert von SCHIRMMEISTER, Harnstoff nach BETHELOT). Als obere Grenzwerte für die Teilnahme am Versuch wurde für die Konzentration von Kreatinin im Serum bei Frauen 1 mg% und bei Männern 1,2 mg% festgesetzt. Bei der Serumkonzentration des Harnstoffs durfte 50 mg% nicht überschritten werden. Für die endogene Kreatinin-Clearance schließlich wurde als Minimalanforderung 75 ml/Min. gestellt. Zusätzlich erfolgte mit Teststreifen (Albustix, Fa. Miles Sparte Ames, Frankfurt am Main) der Ausschluß von Proteinurien.

3.2. Versuchsablauf

Es wurden zwei verschiedene Untersuchungsgänge mit unterschiedlicher Zielsetzung durchgeführt. Zum einen sollte in einem neuntägigen Zeitraum bei Verabreichung der Antibiotika

an drei aufeinanderfolgenden Tagen die Enzymausscheidung im 24 h-Sammelurin beobachtet werden. Hierfür wurde Cephacetril bzw. Cephazolin bzw. Cephalotin eingesetzt. Zum anderen stand das Verhalten der Enzymurie im Verlauf eines einzelnen Tages nach Applikation von Cephacetril im Blickpunkt.

In keinem Fall wurden zusätzliche Medikamente eingenommen. Die Flüssigkeitsaufnahme war ad libitum erlaubt.

3.2.1. Neuntägige Versuchsreihe mit dreimaliger Antibiotika-applikation

Diese Studie umfaßte 26 Probanden. Cephacetril wurde bei 16 eingesetzt. 5 davon waren weiblichen, 11 männlichen Geschlechts, alle im Alter zwischen 18 und 47 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 24,6 Jahren. In zwei Pilotstudien wurden Cephazolin und ebenso Cephalotin bei jeweils 5 Probanden angewandt. Für Cephazolin lagen diese altersmäßig zwischen 21 und 25 Jahren. Ihr Durchschnittsalter betrug 22,6 Jahre. Es handelte sich um 2 Frauen und 3 Männer. Die entsprechenden Daten des Cephalotinkollektivs lauteten wie folgt: Alter 20-27 Jahre, Durchschnittsalter 24,6 Jahre; Geschlechtsverteilung: 1 weiblicher, 4 männliche Probanden.

Jeder Versuch war auf die Dauer von 9 Tagen anberaumt. Am 1. und am 2. Tag wurden die 24 h-Urine als Leerwerte gesammelt (Tage O_1 und O_2). Am 3., 4. und 5. Tag wurde jeweils am Beginn der neuen 24-stündigen Sammelperiode 8 g Cephacetril bzw. 8 g Cephalotin bzw. 6g Cephazolin ad 250 ml physiologischer NaCl-Lösung als Kurzinfusion innerhalb von 30 Minuten verabfolgt. So wurde also an drei aufeinanderfolgenden Tagen das gleiche Antibiotikum zur gleichen Zeit in der gleichen Menge infundiert. Die 24 h-Urine wurden von jedem Versuchstag gesammelt, ebenso am 6., 7. und 9. Tag, an denen keine weiteren Infusionen mehr stattfanden. Diese Tagesurine wurden auf ihren Enzymgehalt biochemisch und immunologisch weiter untersucht, die Konzentration des Kreatinins im Harn wurde gemessen.

Jeweils unmittelbar vor den Infusionen am 3., 4. und 5. Tag, also als Schlußpunkt der vorausgegangenen 24 h-Sammelperioden, und zur gleichen Zeit am 9. Tag wurde den Probanden 20 ml Blut abgenommen. Hieraus wurden die Konzentrationen des Kreatinins und des Harnstoffs im Serum ermittelt. Außerdem wurde versucht, evtl. noch vorhandene Serumantibiotikaspiegel zu bestimmen.

3.2.2. Tagesprofil der Enzymurie: Kontrollgruppe - Cephacetrilversuchsgruppe

Dieser Versuchsteil wurde mit 5 Probanden und mit einer 4 Personen umfassenden Kontrollgruppe durchgeführt. Die 5 erhielten je einmal 8 g Cephacetril ad 250 ml physiologische NaCl-Lösung als Kurzinfusion innerhalb von 30 Minuten verabreicht. Strukturell zusammengesetzt war diese Gruppe aus 2 Frauen und 3 Männern im Alter von 21 bis 52 Jahren. Ihr Durchschnittsalter betrug 28,6 Jahre. Die entsprechenden Daten der Kontrollgruppe, deren Mitglieder keine Infusion erhielten, zum Vergleich: Geschlechtsverteilung: 1 Mann, 3 Frauen, Alter: 21-49 Jahre, Durchschnittsalter 29,5 Jahre.

Die Versuchsdauer betrug 24 Stunden. Um je einen Leerwert zu erhalten, sammelten die Versuchspersonen zwei Stunden lang Urin. Dann erfolgte die Cephacetrilinfusion. Fünf weitere zweistündige und eine zwölfstündige Sammelperiode schlossen sich an. Insgesamt wurden so 7 Urinportionen pro Proband erhalten, die auf ihren Enzymgehalt biochemisch und immunologisch weiter untersucht wurden.

Die Kontrollgruppe sammelte in den gleichen Zeitintervallen. Es wurde lediglich dahingehend modifiziert, daß die letzte zweistündige Sammelperiode mit der zwölfstündigen zusammengefaßt wurde. Auf diese Weise entstanden hier pro Proband sechs Urinproben, die den oben genannten Untersuchungen zugeführt wurden.

Durch Blutentnahmen direkt nach der ersten zweistündigen Sammelperiode und somit unmittelbar vor Infusionsbeginn wurde Serum für die Kreatinin- und Harnstoffbestimmung gewonnen.

3.3. Analysemethoden

Alle Urinportionen, sowohl die 24 h-Urine der neuntägigen Versuche als auch die 2-, 12- bzw. 14 h-Mengen, die bei der Erstellung des Tagesprofils der Enzymurie anfielen, wurden in Polyäthylengefäßen gesammelt, denen zuvor eine Spatelspitze Natriumacid (NaN_3 , Fa. Merck, Art. 6688) als Konservierungsmittel zur Unterdrückung des Bakterienwachstums zugesetzt worden war.

Da gemäß der zweigleisig angelegten Versuchsanordnung quantitativ sehr unterschiedliche Urinmengen gewonnen wurden, erfolgte die Weiterverarbeitung nach 2 verschiedenen Methoden.

3.3.1. Verarbeitung der 24 h-Urine aus den neuntägigen Versuchen mit Cephacetril, Cephazolin bzw. Cephalotin

Alle 24 h-Portionen wurden bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Die Verweildauer des Natriums unter diesen Bedingungen betrug in der Regel 1-5 Stunden, im Höchstfall 1 Tag. Danach wurde die 24 h-Gesamtmenge gut durchmischt, ihr Volumen bestimmt und ca. 5 ml davon zur Bestimmung der Alanin-Amino-Peptidase und gegebenenfalls des Kreatinins (siehe Nierenfunktionsprüfung 3.1.2.) entnommen. Anschließend wurde der verbleibende Urin, höchstens jedoch 1600 ml, 15 Minuten bei 11000U/Min. und $+4^{\circ}\text{C}$ mit dem Rotor Hb 4 in 250 ml-Einsätzen zentrifugiert (Servall Typ RC-2, Ludwig Hormuth, Inh. W.E. Vetter, Heidelberg-Wiesloch, BRD). Von den Überständen wurde ein definiertes Volumen über das Ultrafiltrationssystem DC 2

(Fa. Amicon, Lexington, Ma., USA) einkonzentriert, das Sediment hingegen wurde verworfen. Auf diese Weise konnten die Urine der Cephacetrilversuchsgruppe auf das 14-90fache (bei einem mittleren Konzentrationsfaktor von 29), die der Cephalazolinprobanden auf das 18-136fache (mittlerer KF = 39) und schließlich die der Cephalotinversuchspersonen auf das 19-141fache (mittlerer KF = 38) eingeengt werden.

Bei dem Konzentrierungsvorgang wurde die in die Kammer eingesetzte Urinmenge unter Druck durch Hollow Fibers Typ HLP 10, Fa. Amicon, gepreßt, wobei ein Schlauchpumpsystem (Modell LP 1 A, Fa. Amicon) für eine gleichmäßige Verteilung der im Retentat sich zunehmend anreichernden Moleküle sorgte. Dieser Typ der Hollow Fibers hält nämlich bei einem festgelegten Maximaldurchfluß Moleküle mit einem Molekulargewicht über 10000 im Retentat, während kleinere Moleküle ins Filtrat gelangen. Die Molekulargewichte der untersuchten Enzyme liegen mit 240000 für die AAP, 126000 für die gamma-GT und 200000 für die AP deutlich über der genannten Grenze. Die Filtrate wurden verworfen, die Konzentrate nach Volumenmessung (ca. 30-35 ml) in mehreren Einzelportionen bei -20°C schnellgefroren.

3.3.2. Verarbeitung der 2-, 12- bzw. 14-h-Urinportionen aus den Eintagesversuchen mit Cephacetril und bei der Kontrollgruppe

Diese Harnportionen wurden unmittelbar und ohne Lagerung verwertet. Nach gründlicher Mischung und Volumenbestimmung wurden aus jeder Urinportion ca. 4 ml für die AAP-Bestimmung entnommen. Die noch verbliebene Menge wurde bei der Kontrollgruppe verworfen, bei den mit Cephacetril behandelten Probanden nach erneuter Volumenmessung jedoch einkonzentriert. Das geschah in einem auf $+4^{\circ}\text{C}$ gekühlten Raum mit Hilfe einer 50 ml fassenden Ultrafiltrationszelle (Amicon Modell 52) und einem Magnetprüher (MT 2). Diese Gerätekomination preßte den

Urin mit einem Druck von 3 atü N₂ unter ständigem Rühren durch ein Filter. Der verwendete Filtertyp Diaflo Ultrafiltrationsmembran PM 10 hielt bei dem oben genannten Druck Moleküle mit einem Molekulargewicht von über 10000 im Retentat. Der Konzentrationsvorgang wurde so lange fortgesetzt, bis das Konzentrat ein Volumen von ca. 2-3 ml erreichte. Das Retentat wurde der Maschine entnommen und sein Volumen bestimmt, das Filtrat verworfen.

Es konnten so die Urine auf das 15-45fache eingeengt werden. Der mittlere Konzentrationsfaktor lag bei 29. Auch diese Harnkonzentrate wurden, wie unter 3.3.1. beschrieben, bei -20° C in mehreren Einzelportionen tiefgefroren.

3.3.3. Enzymatische Untersuchungen (kinetisch)

Für die kinetische Aktivitätsbestimmung der drei Bürstensaumenzyme fanden sowohl die aus dem Nativharn entnommenen Proben als auch die Urinkonzentrate Verwendung. Die AAP wurde aus den Nativharnen, die gamma-GT und die AP aus den Harnkonzentraten bestimmt, indem ein definiertes Volumen in eine Küvette mit dem Reaktionsansatz aus Puffer und Substrat eingipettiert und unmittelbar nach Durchmischen die Zeit für die Extinktionsänderung $\Delta E = 0,1$ mit der Stoppuhr ermittelt wurde. Die Enzymaktivität in mU/ml Nativharn bzw. Urinkonzentrat errechnet sich dann nach der Formel

$$\text{Aktivität} = \frac{0,1 \times 60 \times V_o}{t \times a \times d \times V_p}$$

wobei a der molare Extinktionskoeffizient des jeweils entstandenen Chromogens, d die Küvettschichtdicke in cm, V_o das Endvolumen des Reaktionsansatzes, V_p das eingesetzte Probevolumen, beides in ml, und t die gemessene Zeit für $\Delta E = 0,1$ in Sekunden ist.

Dabei wurde vorausgesetzt, daß es sich um Reaktionen 0. Ordnung handelt, bei denen die Bildung des Reaktionsproduktes, hier des Chromogens, zeitlinear erfolgt. Da dies im Bereich sehr hoher Konzentrationen nicht mehr mit Sicherheit angenommen werden kann, wurde so verfahren, daß bei einer Zeit für $\Delta E = 0,1$ von weniger als 30 sec. die Bestimmung mit der Hälfte des zunächst eingesetzten Probevolumens wiederholt wurde. Regelmäßig wurden Doppelbestimmungen durchgeführt, die im seltenen Falle einer mehr als zehnprozentigen Abweichung voneinander auf Vierfachbestimmungen ausgedehnt wurden.

Für die Enzymbestimmung stand ein Filterphotometer Küvettenwechslerautomat 2702 der Fa. Metheler und Hinz, Eppendorf, sowie die dazugehörigen Stempelpipetten zur Verfügung.

Die kinetischen Enzymaktivitätsmessungen im einzelnen:

3.3.3.1. Alanin-Amino-Peptidase (AAP)

Die AAP wurde über ihren Umsatz an L-Alanin-4-Nitroanilid-Hydrochlorid bestimmt. Folgendes Prinzip lag dieser Reaktion zugrunde: L-Alanin-4-Nitroanilid-Hydrochlorid $\xrightarrow{\text{AAP}}$ p-Nitroanilin + L-Alanin.

Der Reaktionsansatz enthielt in der Regel 1,4 ml 0,1 molaren Phosphatpuffer pH 7,6 und 0,2 ml einer $1,66 \times 10^{-2}$ molaren Lösung von L-Alanin-p-nitroanilid als Substrat. Hierzu wurden 0,4 ml Nativharn pipettiert. Im Testansatz war also das Endvolumen 2,0 ml. Volumenänderungen wurden hier nur beim Phosphatpuffer und der Probe vorgenommen. Das Endvolumen und die L-Alanin-Menge wurden konstant gehalten. Die Messung erfolgte im Photometer bei 25° C und 405 nm.

3.3.3.2. Gamma-Glutamyl-Transferase (gamma-GT)

Der Ansatz enthielt 0,8 ml einer Lösung von 4 mM Gammaglutamyl-p-Nitranilid und 40 mM Glycylglycin in 185 mM Trispuffer pH 8,5.

Hinzupipettiert wurden in der Regel 0,2 ml Harnkonzentrat. Bei Probemengenveränderung wurde das Gesamtansatzvolumen von 1 ml beibehalten, Puffer und Probe variiert. Die Reaktion $\text{gamma-glutamyl-p-Nitroanilid} + \text{Glycylglycin} \xrightarrow{\text{gamma-GT}} \text{gamma-Glutamyl-Glycylglycid} + \text{p-Nitroanilid}$ wurde bei 25° C und 405 nm gemessen.

3.3.3.3. Alkalische Phosphatase (AP)

Der Testansatz bestand aus 0,6 ml einer Lösung von 5,5 mM Natrium-p-nitrophenyl-phosphat und 0,5 mM MgCl_2 in 50 mM Glycinpuffer pH 10,5. Als Probe wurde zumeist 0,4 ml Harnkonzentrat zugesetzt. Im Testansatz wurden die Volumina für Substrat, Puffer und Probe variiert, das Endvolumen wurde jedoch konstant gehalten (1 ml). Die Messung der Reaktion $\text{p-Nitrophenylphosphat} \xrightarrow{\text{AP}} \text{p-Nitrophenol} + \text{Phosphat}$ wurde bei 37° C und 405 nm vorgenommen.

Für die gamma-GT- und AP-Bestimmung wurden die Biochemica-Testkombinationen "gamma-GT Monotest" und "Alkalische Phosphatase" der Fa. Boehringer, Mannheim, GmbH, verwendet; das Substrat L-Alanin-p-Nitranilid stammt von der Fa. E. Merck, Darmstadt.

Alle gemessenen Enzymaktivitäten wurden entweder auf die 24-Stunden-Ausscheidung oder auf die Ausscheidung pro Minute umgerechnet.

Die Berechnung der 24-Stunden-Aktivitäten erfolgte nach den Formeln:

im Nativharn

$$\frac{\text{Enzymaktivität}}{24 \text{ h}} \left[\frac{\text{mU}}{24 \text{ h}} \right] = \frac{\text{Enzymaktivität/ml Nativharn} \left[\frac{\text{mU}}{\text{ml}} \right] \times 24\text{-Stunden-Urinvolumen} \left[\text{ml} \right]}{24 \text{ h}}$$

im Harnkonzentrat

Enzymaktivität/24 h [mU/24 h] =

$$\frac{\text{Enzymaktivität/ml Urinkonzentrat} \times 24\text{-Stunden-Urinvolumen [ml]}}{\text{Konzentrationsfaktor}}$$

wobei gilt:

$$\text{Konzentrationsfaktor} = \frac{\text{eingesetztes Urinvolumen [ml]}}{\text{entnommenes Urinvolumen [ml]}}$$

Die Berechnung der Enzymaktivität pro Minute wurde nach

Enzymaktivität/Min. [mU/Min.] =

$$\frac{\text{Enzymaktivität/ml Nativharn} \times \text{Urinvolumen in z Min. [ml]}}{\text{Zeit z [Min.]}}$$

durchgeführt.

3.3.4. Elektroimmundiffusion

Sämtliche Harnkonzentrate wurden der Elektroimmundiffusion in Anlehnung an LAURELL unterzogen (112a, b). Damit sollte, ergänzt durch eine spezifische Färbemethode, der Beweis für die Enzymnatur der Proteine und deren Herkunft aus dem Bürstensaum geführt werden. Die Diffusion erfolgte in 0,8 %igem Agarosemedium mit 1 bzw. 2 % Antiserumzusatz. Als spezifischer Antikörper stand ein gegen die Plasmamembranen menschlicher Nierentubuli gerichtetes Kaninchenserum (Anti-PM Pool B, n. SCHERBERICH) zur Verfügung, über dessen Gewinnung und eingehende biochemische und immunologische Charakterisierung mehrfach berichtet wurde. Das Antiserum wurde gegen menschliche Plasmaproteine absorbiert, seine Spezifität für die genannten renalen Strukturen konnte anhand immunfluoreszenzmikroskopischer Untersuchungen gesichert werden.

Für die Herstellung des Trärgels wurden 1,6 g Spezial-Agarose (Fa. Schwarz und Mann, Orangeburg, N.Y. USA, Art. Nr. 908031) in 100 ml 0,06 M Na-Veronal Puffer pH 8,6, 1:4 ver-

dünnt mit Aqua bidest, gelöst. Diese Lösung wurde über der Bunsenflamme zum Sieden gebracht und anschließend im Wasserbad auf 50° C zurücktemperiert. Ebenfalls bei 50° C inkubiert wurden an Na-Veronal Puffer 1:4 die Hälfte des für den Gesamtansatz benötigten Gelvolumens, vermindert um das für eine 1- bzw. 2 %ige Antikörperlösung errechnete Volumen an Antiserum, das erst unmittelbar vor dem Ausgießen der Gelplatten zugesetzt wurde.

Sorgfältig gereinigte quadratische Glasplättchen (6,5 x 6,5 cm) wurden in dazugehörige Plexiglasformen gelegt und der schmale Zwischenraum zwischen Plattenrand und Form mit 50° C warmem 1,6 %igen Agarosegel abgedichtet. Nach Erstarren des Gels wurden alle überstehenden Gelreste auf der Glasplatte mit einem spitzen Skalpell vorsichtig entfernt und die Platten auf einem Horizontaltisch (Fa. Boskamp, Hersel) austariert. Anschließend wurde der vorinkubierten Pufferlösung das Antiserum zugemischt und diese mit dem gleichen Volumen an 1,6 %iger Agaroselösung versetzt, gut geschüttelt und auf jede der Platten 6 ml dieser fertigen 0,8 %igen Agaroselösung mit 1 % bzw. 2 % Antiserumanteil aus einer Pipette auflaufenlassen.

Nach Erstarren des Gels (ca. 10 Minuten) wurden an einer Seite jeder Platte in 1 cm Abstand vom Rand nach Schablone 7 bzw. 8 Depotlöcher mit 4 mm Durchmesser in linearer Anordnung gestanzt. Ihr Inhalt wurde mit einer feinen Hohlsonde und einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt.

In jedes Depot wurden mit Hilfe einer Mikroliterspritze (Fa. Unimetrics Universal Corporation, California, USA) eine definierte Menge Harnkonzentrat eingefüllt. Dabei kamen 2 verschiedene Verfahren zur Anwendung. Immer, wenn es sich um Harnkonzentrate der neuntägigen Versuchsreihe handelte, wurden die Depotlöcher mit 18 µl beschickt und die Platten sofort danach in den Immunelektrophoresetank eingesetzt. Lagen jedoch eingeengte Urine der 2- bzw. 12-Stunden-Sammelperioden der eintägigen Versuche vor, wurden zuerst 15 µl Harnkonzen-

trat eingegeben. Eine erneute Füllung mit abermals 15 μ l erfolgte nach Diffusion des ersten Volumens in das Gel, so daß die Gesamtfüllmenge 30 μ l betrug. Auch diese Platten wurden dann möglichst schnell der Immunelektrophorese zugeführt. Dazu stand ein spezieller Immunelektrophoresetank mit Durchflußkühlung und zugehörigem Gleichstromgenerator (Fa. Medical and Biological Instrumentation Ltd., Ashford/Kent, England) zur Verfügung. Als Elektrodenpuffer diente Natrium-Barbital-Puffer nach LAURELL (Na-Barbital 123 g ad 1000 ml Aqua dest., mit 1 M-HCl auf pH 8,6 eingestellt), der Kontakt zum Gel wurde durch genau der Plattenseite entsprechende Filterpapierstreifen (Fa. Schleicher und Schüll, Dassel, BRD, Art. Nr. 2043 b) hergestellt. Die Elektrophorese erfolgte bei Raumtemperatur und 120 V Ausgangsspannung am Generator über 14-16 Stunden ausschließlich in anodischer Richtung, da die hier hauptsächlich interessierenden Enzymproteine bei gleicher Versuchsanordnung nur anodische Wanderung gezeigt hatten (112).

Nach zweitägigem Waschen in 0,9 %iger NaCl-Lösung wurden die Glasplatten mit der Gelschicht vorsichtig aus dem Rahmen gelöst, mit Filterpapier vollständig bedeckt und für ca. 24 Stunden bei Raumtemperatur zum Trocknen ausgelegt. Die Gelschicht festigte sich so zu einem hauchdünnen, festhaftenden Film. Im Anschluß an einen 10-minütigen Quellvorgang in Aqua dest. konnten die Immunelektrophoreseplättchen nun den Färbepbehandlungen unterzogen werden.

3.3.5. Färbemethoden

3.3.5.1. Spezifische AAP-Färbung

Der Färbeansatz enthielt, berechnet für eine Serie von 6 Gelplatten, in 40 ml 0,1 M Tris-HCl-Puffer 1,5 ml 0,02 M KCN-Lösung. Unmittelbar vor der Färbung wurden 24 mg DL-Alanin-beta-naphtylamid (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 11532),

gelöst in 1-2 ml Aqua dest. und einigen Tropfen Methanol, sowie 30 mg Fast-Blue-B-Salt (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 2170), gelöst in 1-2 ml Aqua dest., dem bei 37° C vorinkubiertem Ansatz beigemengt. Danach erfolgte die Überschichtung der Gelplatten mit der Färbelösung und deren Inkubation für 30 Minuten bei 37° C. Immunpräzipitate mit AAP-Aktivität stellten sich als leuchtend rote Banden dar. Im Verlauf der Untersuchungen konnte die Farbintensität der Präzipitationslinien durch Verwendung der doppelten Menge an DL-Alanin-beta-naphtylamid und Fast-Blue-B-Salt und durch Austausch des Tris-Puffers gegen 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,6 deutlich gesteigert werden.

3.3.5.2. Unspezifische Proteinfärbung

Nach Photographieren der spezifischen Präzipitate (s.o.) wurden die Platten in ein Färbepad mit 5 g Coomassie Brilliantblau (Fa. Biomol, Ilvesheim, Nr. 2371) in 900 ml 95 %igen Äthylalkohol und 100 ml Eisessig 15 Minuten eingelegt.

Im nächsten Arbeitsgang erfolgte die Entfärbung der Platten in einer Lösung aus 900 ml 95 %igem Äthylalkohol und 100 ml Eisessig unter ständiger Beobachtung, solange, bis gegebenenfalls Proteinbanden zur Darstellung kamen.

Abweichend von diesem Vorgehen wurden alle Plättchen mit 2 % Kaninchenantiserumanteil im Gel ohne vorherige spezifische AAP-Färbung der unspezifischen Proteinfärbung unterzogen.

Über die aufgeführten Methoden wurde z.T. auch an anderen Stellen mehrfach berichtet (106, 112, 126, 218).

3.4. Versuchsmodelle

3.4.1. Versuchsmodelle zur Untersuchung der Beeinflußbarkeit der Enzymaktivität durch die Antibiotika in vitro

- Kinetische Messung

Um festzustellen, inwieweit Antibiotika direkt eine Änderung

der Enzymaktivität herbeizuführen vermögen, wurden Nativurinproben vor und nach Cephacetril-, Cephazolin- oder Cephalotinbeigabe auf ihre enzymatische Aktivität im Photometer geprüft (s.o.). Dafür wurden aus einem 24 h-Sammelurin definierten Volumensnach gründlichem Durchmischen 4 gleiche Mengen abpipettiert. Eine Probe diene als Leerwert, in die verbleibenden drei wurden die drei Cephalosporine eingewogen, und zwar in genau dem Verhältnis, dem eine Lösung von 8 g Cephacetril bzw. 6 g Cephazolin bzw. 8 g Cephalotin im Gesamturinvolumen entspricht. Dieses Vorgehen in vitro entspräche in vivo einer 100 %igen Elimination der Antibiotika in aktiver unveränderter Form in den ersten 24 Stunden nach ihrer Applikation.

- Immunologische Bestimmung

Zum einen sollte eine direkte Reaktion der Antibiotika mit dem spezifischen Färbemedium ausgeschlossen werden. Zum anderen stand zur Diskussion, ob und in welchem Ausmaß eine Änderung der immunologischen Reaktionen durch die Cephalosporinderivate bewirkt wurde. Basierend auf dieser Fragestellung, wurden zwei Versuche durchgeführt:

- a) Aus einem Plättchen mit 1 % Antiserumanteil im Trägergel wurden 5 Depotlöcher (Durchmesser 4 mm) ausgestanzt. Das Konzentrat des Leerwerttages O_2 des Probanden 209, welchem in den vorhergehenden Elektrophoresen das Fehlen von AAP-Aktivität bescheinigt worden war, wurde in 4 Portionen aufgeteilt. In die ersten 3 wurden je 4 mg Cephacetril bzw. 4 mg Cephazolin bzw. 4 mg Cephalotin/ml Harnkonzentrat eingewogen. Portion Nr. 4 wurde ohne Zusätze belassen. 20 μ l dieser Lösungen bzw. des Leerwertes wurden nun in die Depots 1-4 einpipettiert. Die 5. Ausstanzung wurde dagegen mit 20 μ l eines AAP-Standards (HKD PM Pap Ü 1:20 n. SCHERBERICH) beschickt, um anhand der bekannten Aktivität dieser Probe (89 mU/ml Harnkonzentrat) das einwandfreie Funktionieren der Elektrophoreseanord-

nung nachweisen zu können. Sofort nach Ende des Einfüllvorgangs wurde die Platte in die Kammer zur Elektroimmundiffusion eingesetzt und später AAP-sepzigfisch angefärbt.

- b) Hier wurde mit 5 % Antiserumanteil und mit 4 Depotlöchern (Durchmesser 4 mm) gearbeitet. Jeweils 0,04 g Cephacetril und 0,04 g Cephalotin sowie 0,03 g Cephazolin wurden in 3 Reagenzgläsern mit 6,6 ml Aqua bidest gelöst. Dann wurden 10 μ l dieser Antibiotikalösung sowie in einem Fall 10 μ l reines H₂O mit 25 μ l des AAP-Standards (HKD PM Pap Ü 1:20) vermischt. In die 4 Depots wurden nun je 20 μ l dieser 4 verschiedenen Ansätze einpipettiert und die Immunelektrophorese mit nachfolgender spezifischer AAP-Färbung angeschlossen.

3.4.2. Diurese und Enzymurie: Versuch zur Abhängigkeit der Enzymausscheidung vom Urinvolumen

Dieses Experiment sollte Aspekte über den Zusammenhang von Urinproduktion und Enzymurie aufzeigen. Zu diesem Zweck wurde über 24 Stunden der Urin eines gesunden männlichen Probanden (Z.M., 22 Jahre) mit normaler Nierenfunktion (siehe unter 3.1.2.) fortlaufend in einer Zweistundenportion, sechs Einstundenportionen und schließlich einer Sechzehnstundenportion gesammelt. Dabei erfolgte nach dem anfänglichen Zwei-Stunden-Intervall mit Flüssigkeitsabstinenz eine orale Wasserbelastung mit 2 Liter in 30 Minuten. Die so gewonnenen Urinvolumina wurden umgehend der Alanin-Amino-Peptidase-Bestimmung zugeführt.

3.5. Bestimmung der Antibiotikarestaktivität im Serum

Alle Seren der neuntägigen Versuche wurden nach zwischenzeitlicher Lagerung bei konstant -25° C diesen Untersuchungen zugeführt. Die Aktivitätsbestimmung der Gesamtspiegel im Serum

erfolgte im Agar-Diffusionstest (Difco Antibiotic Medium I) mit Bac. subtilis ATC 6633 als Teststamm in Sporensuspension. Für die Serumspiegeluntersuchungen wurde die Standardsubstanz in Humanserum titriert. Die Hemmhöfe wurden ausgemessen; die Auswertung der Diameter erfolgte im halblogarithmischen System gegen homologen Standard (Hygiene-Institut der Universitätsklinik Frankfurt/Main, Prof. Knothe).

3.6. Statistische Methoden

Als einfache Kenngrößen des Meßwertkollektivs wurden das arithmetische Mittel, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient herangezogen. Für die Austestung der Ergebnisse auf signifikante Unterschiede wurde der Wilcoxon-Test für verbundene bzw. unverbundene Paardifferenzen benutzt. Als Signifikanzniveau wurde stets die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit $P = 2\alpha = 0,05$ vorgegeben.

Um Aussagen über die Verteilung der Leerwerte der AAP, der AP und der gamma-GT zu erhalten, wurde der Chi-Quadrat-Anpassungstest durchgeführt. Die Testung auf lineare Abhängigkeit zweier Merkmale erfolgte mittels Bestimmung der empirischen Korrelationskoeffizienten (47, 210).

4. ERGEBNISSE

4.1. Neuntägige Versuchsreihe mit dreimaliger Antibiotikaapplikation

4.1.1. Normalwerte

4.1.1.1. Normalwerte der kinetischen Aktivitätsbestimmung im Photometer

Da sich das Probandenkollektiv ausnahmslos aus nierengesunden Normalpersonen rekrutierte, konnten alle Urine der den Antibiotikaapplikationen vorausgehenden Tage O_1 und O_2 zur Normalwertbestimmung herangezogen werden. In allen Fällen gelang es, AAP im Nativharn und AP und gamma-GT im Urinkonzentrat nachzuweisen. Unterschiede bezüglich der Größe des zugrunde gelegten Kollektivs für die einzelnen Enzyme erklären sich aus zwei Ursachen heraus:

Zum einen war durch das Auftreten einer Allergie in der Cephacetrilstudie (Proband 221) ein Versuchsabbruch unumgänglich. Hier konnten aber die zuvor ermittelten AAP-Leerwerte (O_1 und O_2) mit in die Auswertung einbezogen werden. Zum anderen erwies sich bei einer Probandin der Cephazolingruppe die Auswertung sowohl des Nativharns als auch der Konzentrate in Folge einer beim Meßvorgang auftretenden intensiv roten Färbung des Ansatzes als nicht möglich. Resultierend ergaben sich so folgende Ergebnisse:

4.1.1.1.1. Alanin-Amino-Peptidase (AAP)

Das den Untersuchungen zugrunde liegende Kollektiv bestand hier aus den 16 Teilnehmern der Cephacetrilstudie, ergänzt durch die 4 der Cephazolin-, sowie die 5 der Cephalotinstudie, so daß insgesamt 25 Probanden die Grundgesamtheit darstellten. Der höchste Wert wurde durch die Nr. 216, Tag O_2 , mit 3483 mU/24 h repräsentiert, der niedrigste mit 1096

durch die Nr. 211, ebenfalls Tag O_2 . Das arithmetische Mittel betrug für Tag O_1 2193,8 mU/24 h, für den Tag O_2 2222,9 mU/24 h und entsprechend für beide Leerwerttage zusammen 2208,7 mU/24 h. Im Wilcoxon-Test konnte gezeigt werden, daß sich beide Versuchstage nur nichtsignifikant unterscheiden ($2\alpha > 0,1$). Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse im einzelnen.

Mit dem Chi-Quadrat-Anpassungstest konnte die Nullhypothese, daß die Stichprobe aus einer Gaußverteilung entnommen sei, nicht zurückgewiesen werden ($2\alpha = 0,05$). Dieses ließ sich getrennt für Tag O_1 und Tag O_2 und daher auch für die Addition beider Versuchstage ermitteln. Die entsprechenden Histogramme mit angepaßter Normalverteilung zu Tabelle 1 zeigen die Abbildungen 1, 2 und 3. In den Tabellen 2, 3 und 4 sind die absoluten Häufigkeiten im Vergleich zu den für die Normalverteilung geforderten theoretischen Häufigkeiten gegenübergestellt.

Proband Nr.	AAP mU/24 h		
	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂	Tag 0 ₁ und Tag 0 ₂
200	1426	1893	
201	1848	1522	
202	1528	2928	
204	(-)	3168	
205	2622	(-)	
206	1609	2603	
207	2608	2444	
208	2480	2477	
209	3437	2066	
210	(-)	2718	
213	2306	2568	
214	1778	2616	Werte wie nebenstehend
215	2120	1556	
216	2696	3484	
221	1803	1484	
224	2014	1414	
211	2438	1096	
212	2558	2838	
219	3155	2088	
225	1947	2128	
217	2227	2031	
218	2139	2145	
220	3204	2737	
222	1312	1870	
223	1203	1506	
n	23	24	47
$\bar{x}$	2193,8	2222,9	2208,7
s	605,5	612,7	602,7
VK	27,6	27,6	27,3

Tabelle 1

- Normalwerte der AAP im 24 h-Urin

n = Stichprobenumfang

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

(-) = keine Bestimmung erfolgt

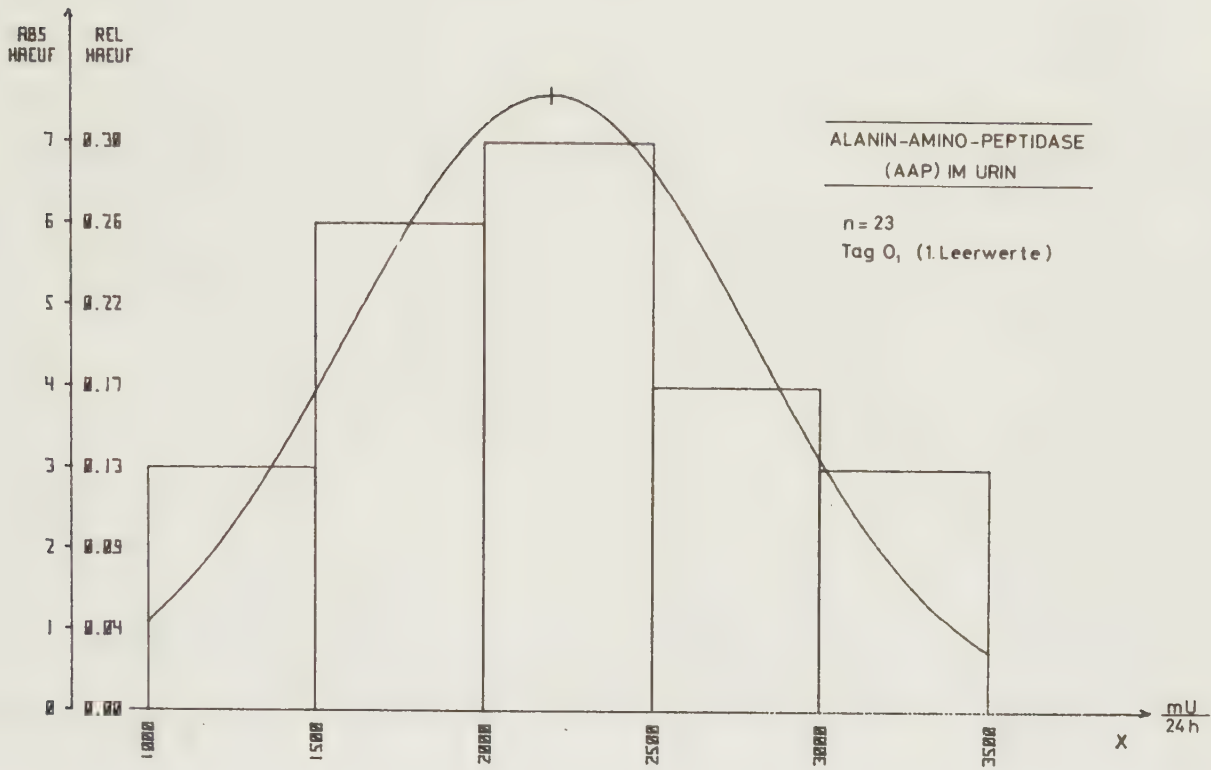


Abb. 1 - Normalwerte der AAP im 24 h-Urin, Tag 0₁
 - Absolute und relative Häufigkeit
 - Angepaßte Normalverteilung

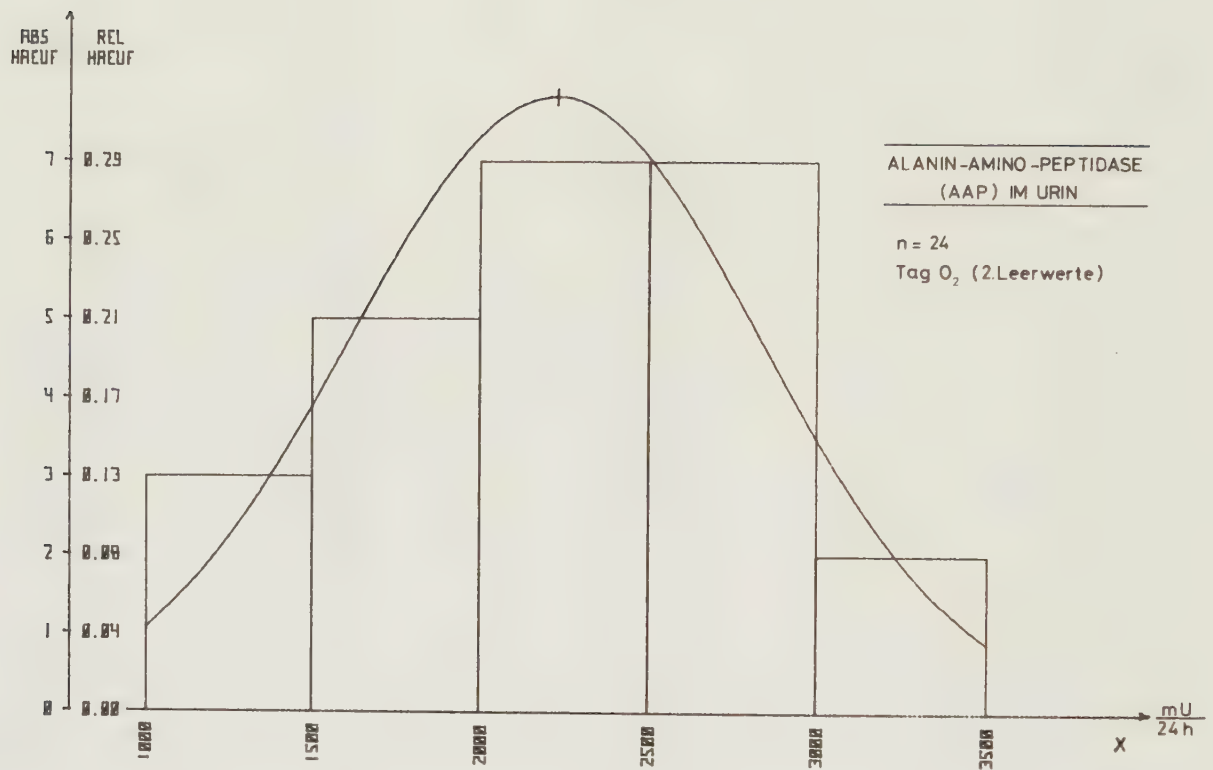


Abb. 2 - Normalwerte der AAP im 24 h-Urin, Tag O₂
 - Absolute und relative Häufigkeit
 - Angepaßte Normalverteilung

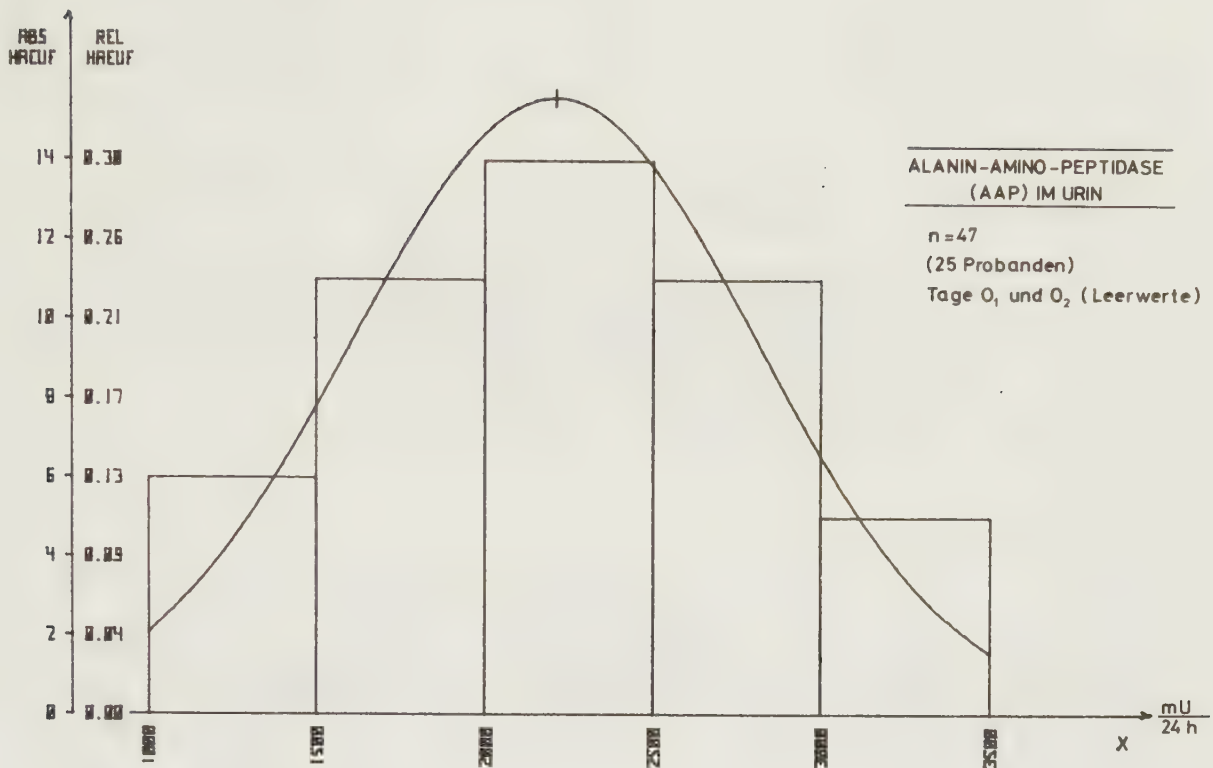


Abb. 3

- Normalwerte der AAP im 24 h-Urin, Tag O₁ und Tag O₂
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

Intervall mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
1000 - 1500	3	2,2485
1500 - 2000	6	5,7920
2000 - 2500	7	7,5444
2500 - 3000	4	4,9692
3000 - 3500	3	1,6550

- Tabelle 2
- Normalwerte der AAP im 24 h-Urin, Tag 0₁
 - Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 1,58
Anzahl der Freiheitsgrade = 2

Intervall mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
1000 - 1500	3	2,2146
1500 - 2000	5	5,8007
2000 - 2500	7	7,8059
2500 - 3000	7	5,3969
3000 - 3500	2	1,9171

- Tabelle 3
- Normalwerte der AAP im 24 h-Urin, Tag 0₂
 - Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 0,952
Anzahl der Freiheitsgrade = 2

Intervall mU/24 h	Beobachtete absolute Häufigkeit	Theoretische Häufigkeit
1000 - 1500	6	4,3901
1500 - 2000	11	11,6441
2000 - 2500	14	15,5185
2500 - 3000	11	10,3922
3000 - 3500	5	3,4968

- Tabelle 4
- Normalwerte der AAP im 24 h-Urin, Tag O_1 und Tag O_2
 - Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 1,456
Anzahl der Freiheitsgrade = 2

4.1.1.1.2. Alkalische Phosphatase (AP)

Für die Auswertung standen die Urine der Tage O_1 und O_2 von 24 Probanden zur Verfügung. 15 waren der Cephacetril-studie, jeweils 4 der Cephalotin- bzw. 5 der Cephalotin-studie zugeteilt. Als höchster Wert wurde 806 mU/24 h (Nr. 209, Tag O_1), als niedrigster Wert 40 mU/24 h (Nr. 212, Tag O_1) ermittelt. Keine Aufnahme in das Normalwertkollektiv fand ein Ausreißer (2887 mU/24 h, Nr. 205, Tag O_2), der deutlich isoliert den anderen Ergebnissen gegenüberstand. Das arithmetische Mittel für Tag O_1 betrug 347,3 mU/24 h, für Tag O_2 248,6 mU/24 h und für beide Tage gemeinsam 299 mU/24 h. Ausschließlich nichtsignifikante Unterschiede zwischen den beiden Leerwerttagen zeigte der Wilcoxon-Test ($2\alpha \geq 0,1$). Die einzelnen Resultate können aus Tabelle 5 entnommen werden.

Proband Nr.	AP mU/24 h		
	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂	Tag 0 ₁ und Tag 0 ₂
200	365	186	
201	104	106	
202	351	163	
204	503	183	
205	560	(-)	
206	542	162	
207	136	231	
208	698	215	
209	806	254	
210	201	136	
213	132	169	
214	403	357	Werte wie nebenstehend
215	421	279	
216	696	439	
224	690	161	
211	309	481	
212	40	281	
219	65	379	
225	344	174	
217	267	150	
218	217	233	
220	115	143	
222	131	407	
223	238	429	
n	24	23	47
$\bar{x}$	347,3	248,6	299
s	225,7	112,2	184,3
VK	65,0	45,1	61,7

Tabelle 5 - Normalwerte der AP im 24 h-Urin

n = Stichprobenumfang

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

Abbildung 4 zeigt das gemeinsame Normalwert-Histogramm mit angepaßter Gaußverteilung der AP im 24 h-Urin für Tag O_1 und Tag O_2 . Im Chi-Quadrat-Anpassungstest wurde aber signifikante Abweichung von der Normalverteilung gefunden, was auch aus Tabelle 6 zu ersehen ist.

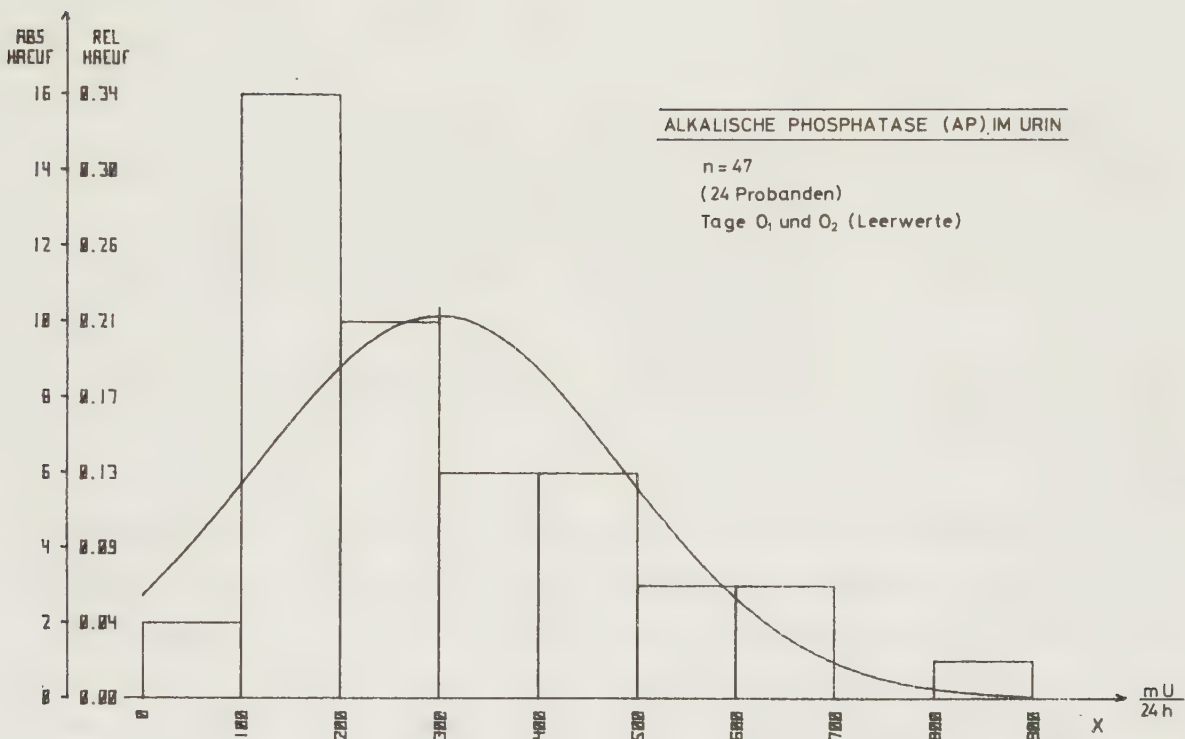


Abb. 4

- Normalwerte der AP im 24 h-Urin, Tag O_1 und Tag O_2
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

Intervall mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
0 - 100	2	4,0856
100 - 200	16	7,3377
200 - 300	10	9,8188
300 - 400	6	9,7893
400 - 500	6	7,2718
500 - 600	3	4,0247
600 - 700	3	1,6596
700 - 800	0	0,5099
800 - 900	1	0,1167

Tabelle 6 - AP-Normalwerte im 24 h-Urin,
Tag O_1 und Tag O_2
- Vergleich der beobachteten mit
den für eine Normalverteilung
postulierten theoretischen Häu-
figkeiten
Chi-Quadrat = 21,520
Anzahl der Freiheitsgrade = 6

Im folgenden wurden die AP-Aktivitäten als $\log$ mU/24 h auf der Abszisse gegen die absoluten und relativen Häufigkeiten dargestellt. Auch hier wurden die angepaßten Gaußverteilungen ermittelt (Abb. 5, 6 und 7). Mit dem Chi-Quadrat-Anpassungstest konnte nunmehr die Nullhypothese, daß die Stichprobe aus einer Gaußverteilung entnommen sei, nicht zurückgewiesen werden ($2\alpha = 0,05$), was den Schluß auf eine Lognormalverteilung der AP im 24 h-Urin nahelegt. Diese Situation ergab sich für beide Tage O_1 und O_2 getrennt sowie für die gemeinsame Betrachtung (Tab. 7, 8 und 9).

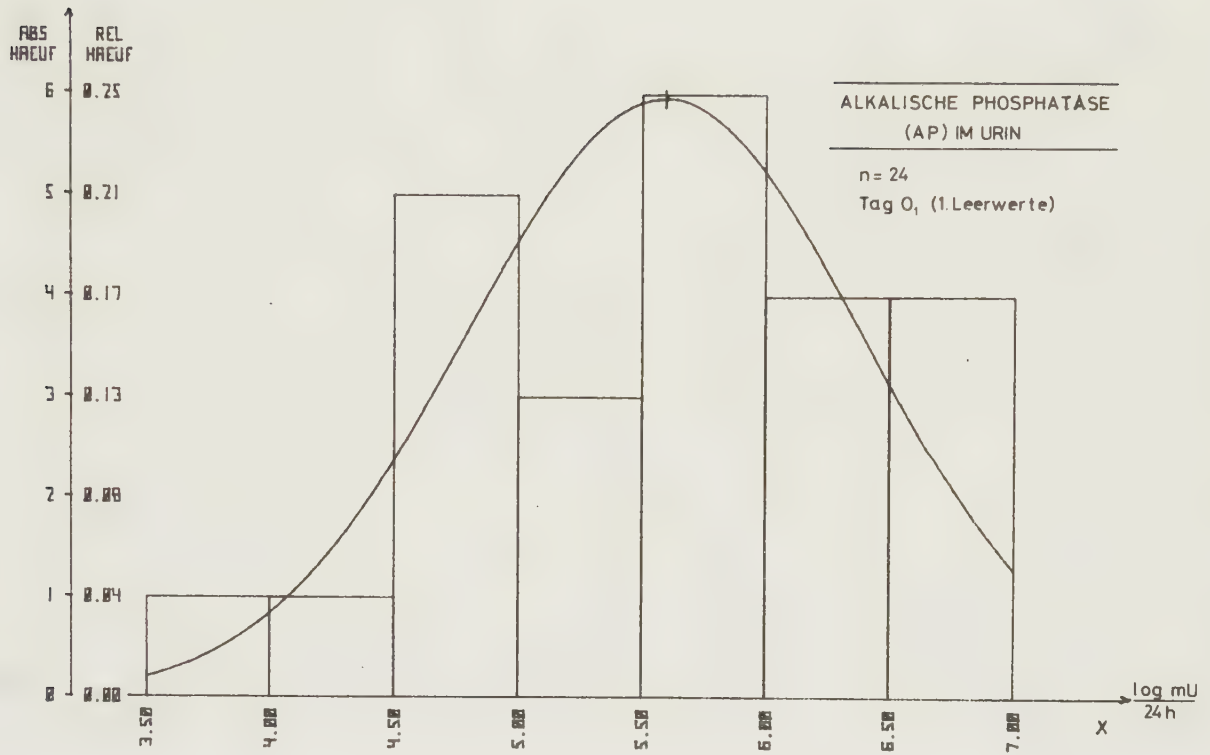


Abb. 5

- Log. der AP-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag 0₁
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

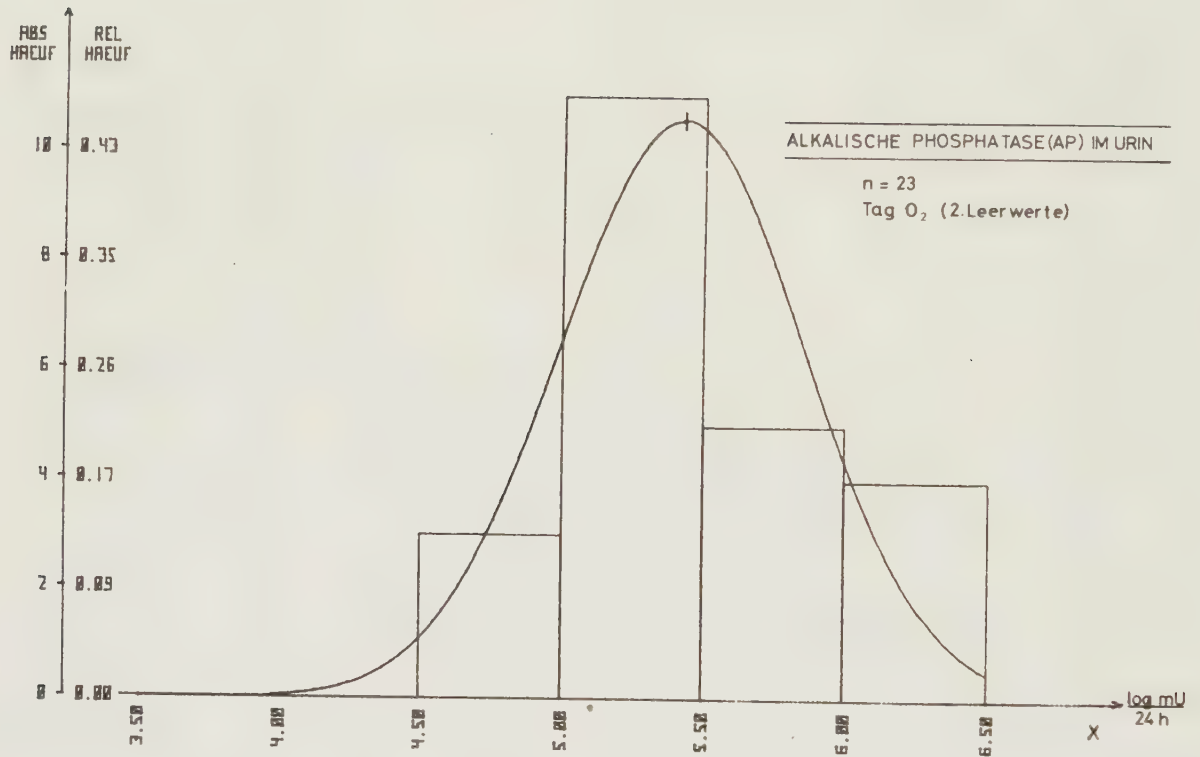


Abb. 6

- Log. der AP-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag O₂
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

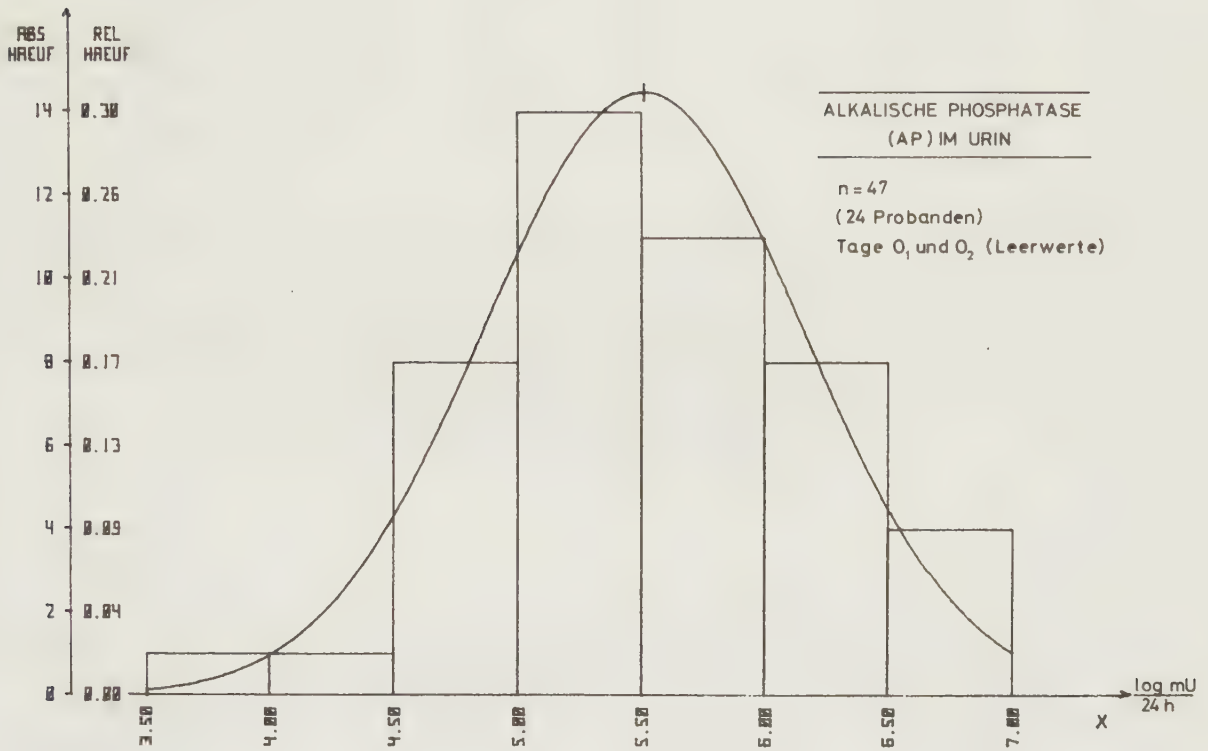


Abb. 7

- Log. der AP-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag 0₁ und Tag 0₂
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

Intervall log mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
3,5 - 4,0	1	0,4300
4,0 - 4,5	1	1,4763
4,5 - 5,0	5	3,4406
5,0 - 5,5	3	5,4432
5,5 - 6,0	6	5,8454
6,0 - 6,5	4	4,2610
6,5 - 7,0	4	2,1085

Tabelle 7 - Log der AP-Normalwerte im 24 h-Urin,
Tag 0₁
- Vergleich der beobachteten mit den
für eine Normalverteilung postulier-
ten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 4,43
Anzahl der Freiheitsgrade = 4

Intervall log mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
3,5 - 4,0	0	0,0061
4,0 - 4,5	0	0,2694
4,5 - 5,0	3	3,1569
5,0 - 5,5	11	9,7670
5,5 - 6,0	5	7,9795
6,0 - 6,5	4	1,7215

Tabelle 8 - Log der AP-Normalwerte im 24 h-Urin,
Tag 0₂
- Vergleich der beobachteten mit den
für eine Normalverteilung postulier-
ten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 4,567
Anzahl der Freiheitsgrade = 3

Intervall log mU/24 h	Beobachtete absolute Häufigkeit	Theoretische Häufigkeit
3,5 - 4,0	1	0,3614
4,0 - 4,5	1	2,1842
4,5 - 5,0	8	7,2747
5,0 - 5,5	14	13,3540
5,5 - 6,0	11	13,5108
6,0 - 6,5	8	7,5340
6,5 - 7,0	4	2,3155

- Tabelle 9
- Log der AP-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag O₁ und Tag O₂
 - Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
- Chi-Quadrat = 3,595
Anzahl der Freiheitsgrade = 4

4.1.1.1.3. Gamma-Glutamyl-Transferase (gamma-GT)

Das zugrunde liegende Kollektiv entsprach mit 24 Probanden genau dem bei der AP aufgeführten. Die höchste Aktivität wurde bei Teilnehmer Nr. 219, Tag O₂ (21185 mU/24 h), die niedrigste bei Nr. 207, ebenfalls Tag O₂ (56 mU/24 h), ermittelt. Als arithmetisches Mittel für Tag O₁ ergab sich 4741,2 mU/24 h, für Tag O₂ 4540,8 mU/24 h und für beide Tage 4647,2 mU/24 h. Beide Leerwerttage unterschieden sich im Wilcoxon-Test lediglich nichtsignifikant voneinander ($2\alpha > 0,1$). Die Resultate im einzelnen sind Tabelle 10 zu entnehmen.

Proband Nr.	gamma-GT mU/24 h		
	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂	Tage 0 ₁ und 0 ₂
200	247	4086	
201	5542	1435	
202	953	5602	
204	13762	3866	
205	1613	2641	
206	1719	5511	
207	7838	56	
208	1943	718	
209	12421	5512	
210	60	1130	
213	1946	1818	Werte wie nebenstehend
214	4324	2120	
215	4841	3008	
216	4843	8586	
224	5902	9795	
211	2687	406	
212	1923	5652	
219	6660	21185	
225	9197	4799	
217	4799	939	
218	7873	4138	
220	4619	4547	
222	3661	4167	
223	4715	7261	
n	24	24	48
$\bar{x}$	4741,2	4540,8	4647,2
s	3564,4	4368,8	3939,3
VK	75,2	96,2	84,8

Tabelle 10

- Normalwerte der gamma-GT im 24 h-Urin

n = Stichprobenumfang

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

Das Normalwerthistogramm mit angepaßter Gaußverteilung wird in Abb. 8 dargestellt. Im Chi-Quadrat-Anpassungstest verdeutlichte sich eine signifikante Abweichung von einer Normalverteilung (Tab. 11).

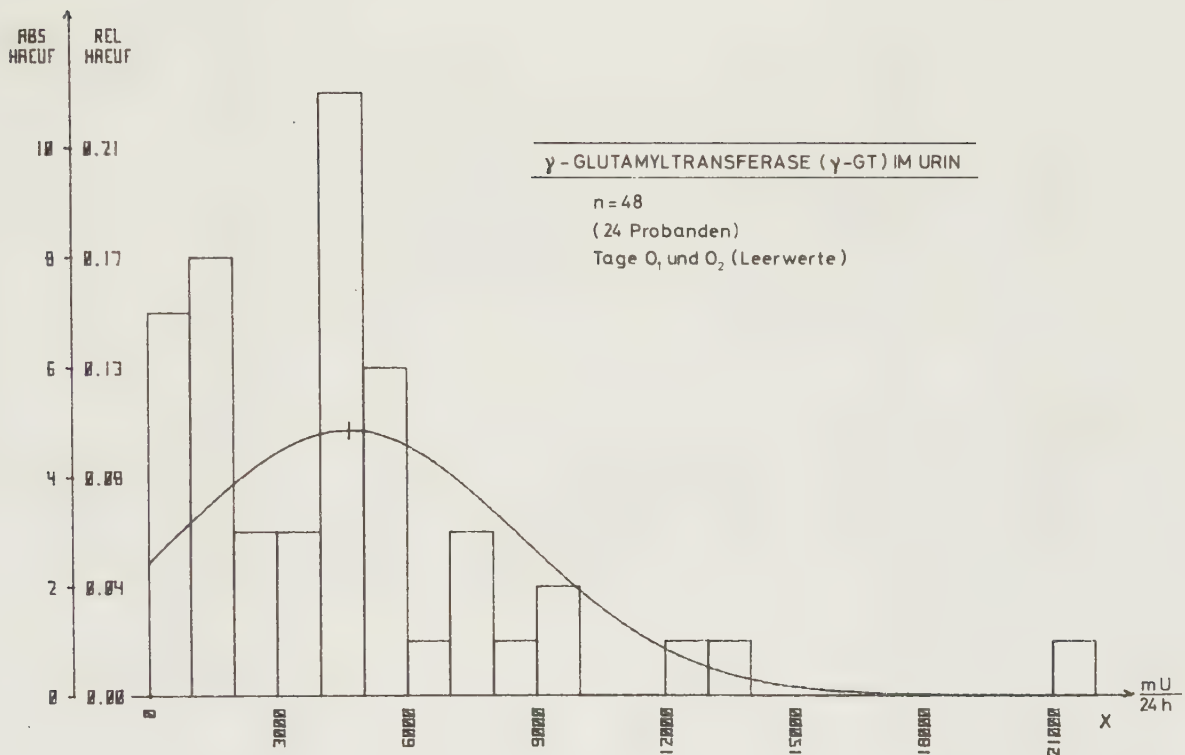


Abb. 8 - Normalwerte der gamma-GT im 24 h-Urin, Tage O₁ und O₂
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

Intervall mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
0 - 1000	7	2,7929
1000 - 2000	8	3,5329
2000 - 3000	3	4,1900
3000 - 4000	3	4,6592
4000 - 5000	11	4,8576
5000 - 6000	6	4,7484
6000 - 7000	1	4,3520
7000 - 8000	3	3,7398
8000 - 9000	1	3,0131
9000 - 10000	2	2,2762
10000 - 11000	0	1,6121
11000 - 12000	0	1,0706
12000 - 13000	1	0,6666
13000 - 14000	1	0,3891
14000 - 15000	0	0,2130
15000 - 16000	0	0,1093
16000 - 17000	0	0,0526
17000 - 18000	0	0,0237
18000 - 19000	0	0,0100
19000 - 20000	0	0,0040
20000 - 21000	0	0,0015
21000 - 22000	1	0,0005

Tabelle 11

- Normalwerte der gamma-GT im 24 h-Urin, Tage O_1 und O_2
- Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 1965,8437
Anzahl der Freiheitsgrade = 19

Intervall log mU/24 h	Beobachtete absolute Häufigkeit	Theoretische Häufigkeit
4,0 - 4,5	1	0,0317
4,5 - 5,0	0	0,1039
5,0 - 5,5	0	0,2881
5,5 - 6,0	1	0,6755
6,0 - 6,5	0	1,3391
6,5 - 7,0	1	2,2446
7,0 - 7,5	2	3,1813
7,5 - 8,0	4	3,8127
8,0 - 8,5	7	3,8636
8,5 - 9,0	5	3,3107
9,0 - 9,5	2	2,3987
9,5 - 10,0	1	1,4696

Tabelle 12 - Log der gamma-GT-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag 0₁
 - Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
 Chi-Quadrat = 36,230
 Anzahl der Freiheitsgrade = 9

Intervall log mU/24 h	Beobachtete absolute Häufigkeit	Theoretische Häufigkeit
4,0 - 4,5	1	0,0415
4,5 - 5,0	0	0,1309
5,0 - 5,5	0	0,3494
5,5 - 6,0	0	0,7892
6,0 - 6,5	1	1,5085
6,5 - 7,0	2	2,4398
7,0 - 7,5	2	3,3389
7,5 - 8,0	3	3,8666
8,0 - 8,5	7	3,7889
8,5 - 9,0	5	3,1416
9,0 - 9,5	2	2,2042
9,5 - 10,0	1	1,3086

Tabelle 13 - Log der gamma-GT-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag 0₂
 - Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
 Chi-Quadrat = 28,309
 Anzahl der Freiheitsgrade = 9

Intervall log mU/24 h	Beobachtete absolute Häu- figkeit	Theoretische Häufigkeit
4,0 - 4,5	2	0,0667
4,5 - 5,0	0	0,2198
5,0 - 5,5	0	0,6100
5,5 - 6,0	1	1,4274
6,0 - 6,5	1	2,8158
6,5 - 7,0	3	4,6828
7,0 - 7,5	4	6,5652
7,5 - 8,0	7	7,7595
8,0 - 8,5	14	7,7315
8,5 - 9,0	10	6,4943
9,0 - 9,5	4	4,5988
9,5 - 10,0	2	2,7454

Tabelle 14

- Log der gamma-GT-Normalwerte im 24 h-Urin, Tage O_1 und O_2
- Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten

Chi-Quadrat = 67,059
Anzahl der Freiheitsgrade = 9

Auch bei logarithmischer Abszissenauftellung (gamma-GT-Aktivität als log mU/24 h) war mit dem Chi-Quadrat-Anpassungstest nur eine Zurückweisung der Nullhypothese, daß die Stichprobe aus einer Normalverteilung entnommen sei, möglich ($2\alpha = 0,05$). Diese Tatsache ließ sich für Tag O_1 und Tag O_2 getrennt und bei kollektiver Betrachtung attestieren. (Abb. 9, 10 und 11 / Tab. 12, 13 und 14). Schlußfolgernd muß das Modell einer Normal- oder Lognormalverteilung für die gamma-GT abgelehnt werden.

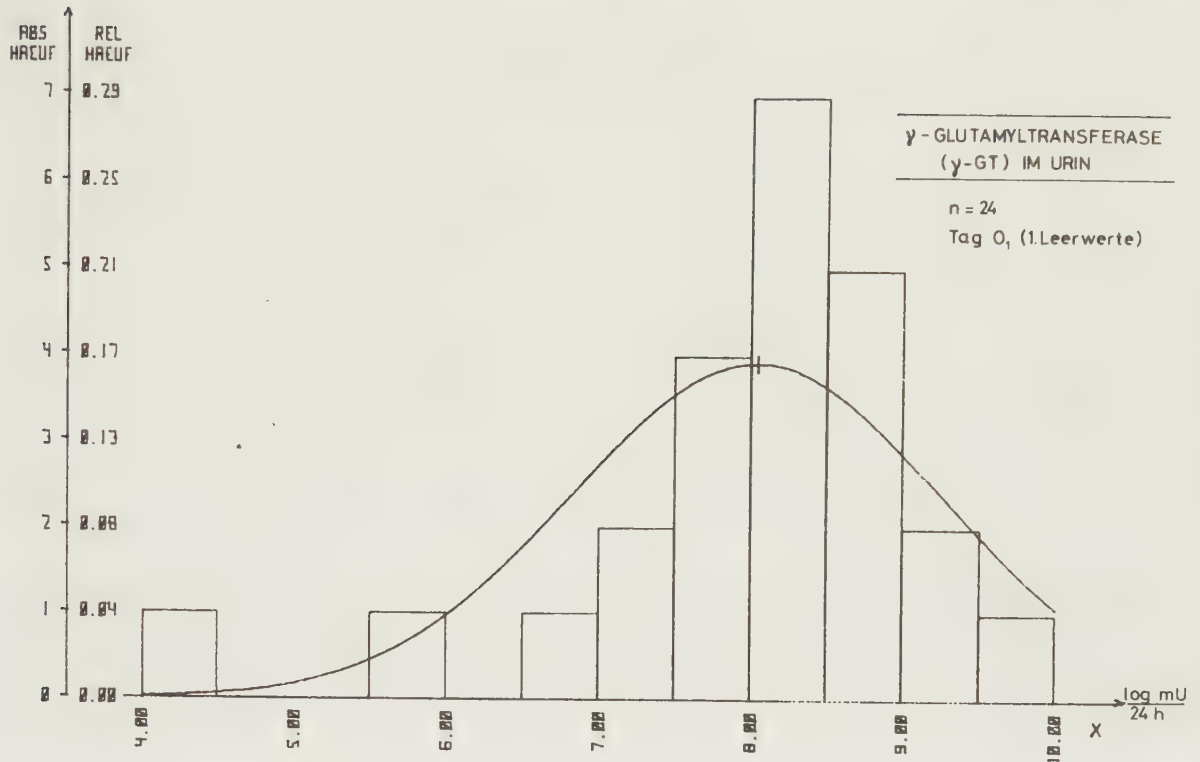


Abb. 9

- Log der gamma-GT-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag 0₁
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

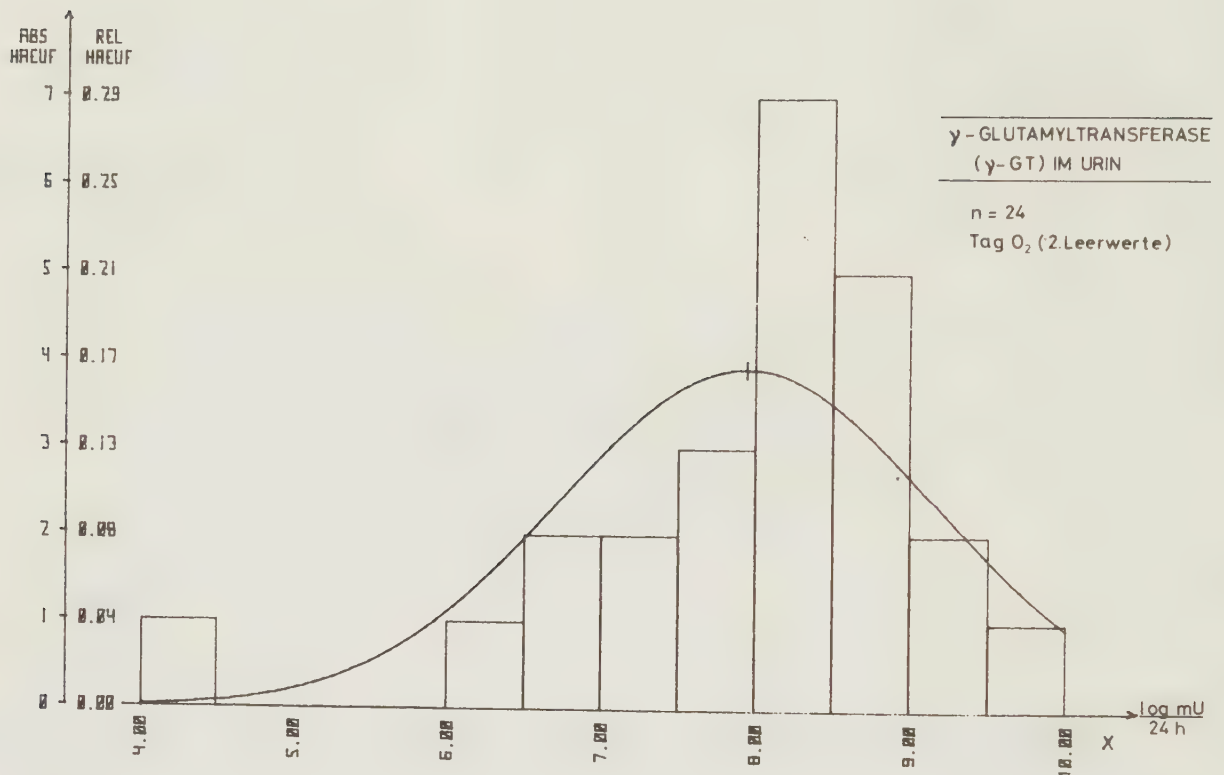


Abb. 10

- Log der gamma-GT-Normalwerte im 24 h-Urin, Tag O₂
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

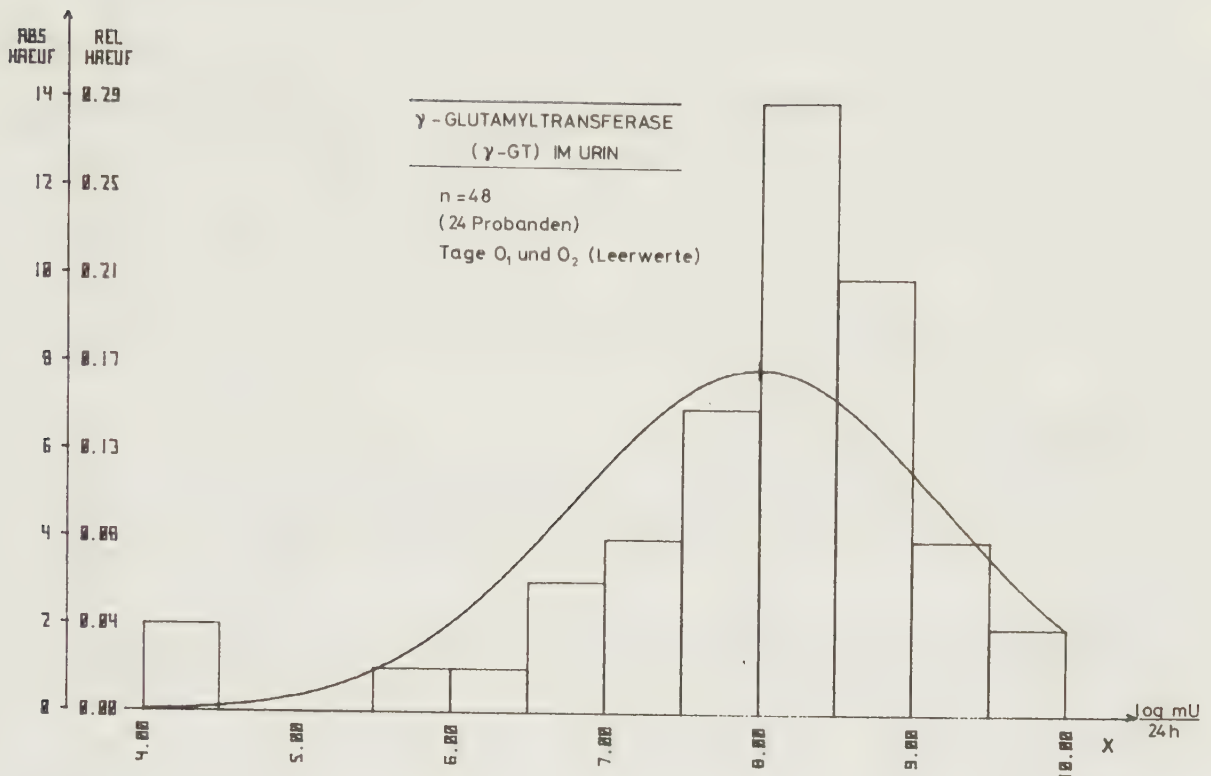


Abb. 11

- Log der gamma-GT-Normalwerte im 24 h-Urin, Tage 0₁ und 0₂
- Absolute und relative Häufigkeit
- Angepaßte Normalverteilung

4.1.1.1.4. Geschlechtsspezifischer Vergleich der kinetisch-photometrisch bestimmten Enzymnormalwerte

Eine nach Geschlechtern getrennte Analyse der unter 4.1.1.1. aufgeführten Daten ist in der Tabelle 15 wiedergegeben. Sie vergleicht die Mittelwerte von weiblichen und männlichen Probanden.

AAP	Tag 0 ₁		Tag 0 ₂		Tage 0 ₁ und 0 ₂	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
$\bar{x}$	1877,7	2332,1	1903,6	2355,7	1890,6	2344,3
n	7	16	7	17	14	33
Vol. $\bar{x}$	1188,0	1196,6	1157,6	1173,1	1172,9	1184,5
gamma-GT	♀	♂	♀	♂	♀	♂
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
$\bar{x}$	2888,4	5522,7	4126,0	4711,5	3507,2	5117,1
n	7	17	7	17	14	34
Vol. $\bar{x}$	1188,0	1273,6	1157,6	1224,9	1172,9	1249,3
AP	♀	♂	♀	♂	♀	♂
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
$\bar{x}$	342,7	356,1	263,7	242,0	303,1	299,0
n	7	17	7	16	14	33
Vol. $\bar{x}$	1188,0	1273,6	1157,6	1179,6	1172,9	1228,0

Tabelle 15 - Geschlechtsbezogener Mittelwertvergleich der AAP-, gamma-GT-, AP-Normalwerte

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h

n = Stichprobenumfang

Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

Die obige Tabelle zeigt im Falle der AAP und der gamma-GT niedrigere Mittelwerte für das weibliche Probandenkollektiv, wohingegen sich bei der AP ein ausgeglichenes Bild ergab.

4.1.1.2. Normalwerte der immunologischen Bestimmungen

Korrespondierend zu den kinetisch-photometrischen Normalwertanalysen wurden auch hier die Urine der Leerwerttage O_1 und O_2 als Vergleichsgrundlage gewählt. Ausnahmslos ihre Konzentrate wurden für die Immunelektrophorese eingesetzt. In keinem Fall war eine spezifische Anfärbung der AAP und damit ihr Nachweis möglich (Antikörper: 1 % Kaninchenantiserum). Die Ergebnisse der unspezifischen Proteinfärbung mit Coomassie-Brillantblau sind unter 4.1.2.4. verzeichnet.

4.1.2. Auswirkung der Antibiotikaapplikation auf die Enzymurie

4.1.2.1. Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase (AAP)

4.1.2.1.1. AAP im Urin: Cephacetrilwirkung

Das Cephacetril-Versuchsprogramm wurde an 16 Probanden durchgeführt in einem Falle (Nr. 221) erforderte eine Allergie den sofortigen Versuchsabbruch. Die Einbeziehung dieses Teilnehmers in die Auswertung war somit nicht möglich.

Tabelle 16 informiert über die Resultate, wobei die Tage O_1 und O_2 wiederum die Leerwerte repräsentieren. An den Tagen 1, 2 und 3 wurde Cephacetril eingesetzt.

Abbildung 12 zeigt die entsprechenden Mittelwerte aus Tab. 16 im neuntägigen Verlauf. Der Wilcoxon-Test wies eine signifikant ($2\alpha \leq 0,05$) höhere AAP-Aktivität für Tag 3 im Vergleich zum Mittelwert der Tage O_1 und O_2 nach.

Proband	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂	8 g Cephacetril/die					Tag 4	Tag 5	Tag 7	Mittelwert beider Leer- werttage mU/24 h
			Tag 1	Tag 2	Tag 3						
Nr.	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h		mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h		
200	1426	1893	1536	1843	1032		2100	2640	1997	1659,5	
201	1848	1522	1933	3284	4935		2793	-	1615	1685	
202	1528	2928	1867	1367	3142		1809	2002	2813	2228	
204	-	3168	4428	4982	5904		5501	-	2450	3168	
205	2622	-	2650	2904	2404		2300	1663	2163	2622	
206	1609	2603	5841	3218	3448		3391	3225	3218	2106	
207	2608	2444	2767	2794	2193		2521	2301	3172	2526	
208	2480	2477	4493	7126	4910		4255	4680	2775	2478,5	
209	3437	2066	4580	4987	4309		4368	4149	4207	2751,5	
210	-	2718	4438	5076	4933		2193	2538	2334	2718	
213	2306	2568	3454	2562	3781		3107	1833	2216	2437	
214	1778	2616	2399	2523	2995		4447	4069	1904	2197	
215	2120	1556	2873	2129	2580		1729	1684	1686	1838	
216	2696	3484	3537	6368	3532		2162	3098	2323	3090	
224	2014	1414	1438	1992	2695		1598	1787	1900	1643,5	
n	13	14	15	15	15		15	13	15		
$\bar{x}$	2190,2	2389,8	3215,6	3543,7	3519,5		2951,6	2743,8	2451,5	2290	
s	573,9	625,8	1316,4	1742,3	1295,3		1190,7	1027,8	691,2		
VK	26,2	26,2	40,9	49,2	36,8		40,3	37,5	28,2		
$\bar{x}$	1093,3	1232,5	1334,4	1433,7	1426,5		1244,5	1201,9	1056,3	1162,9	

Tabelle 16 - AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h, s = Standardabweichung
VK = Variationskoeffizient, Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

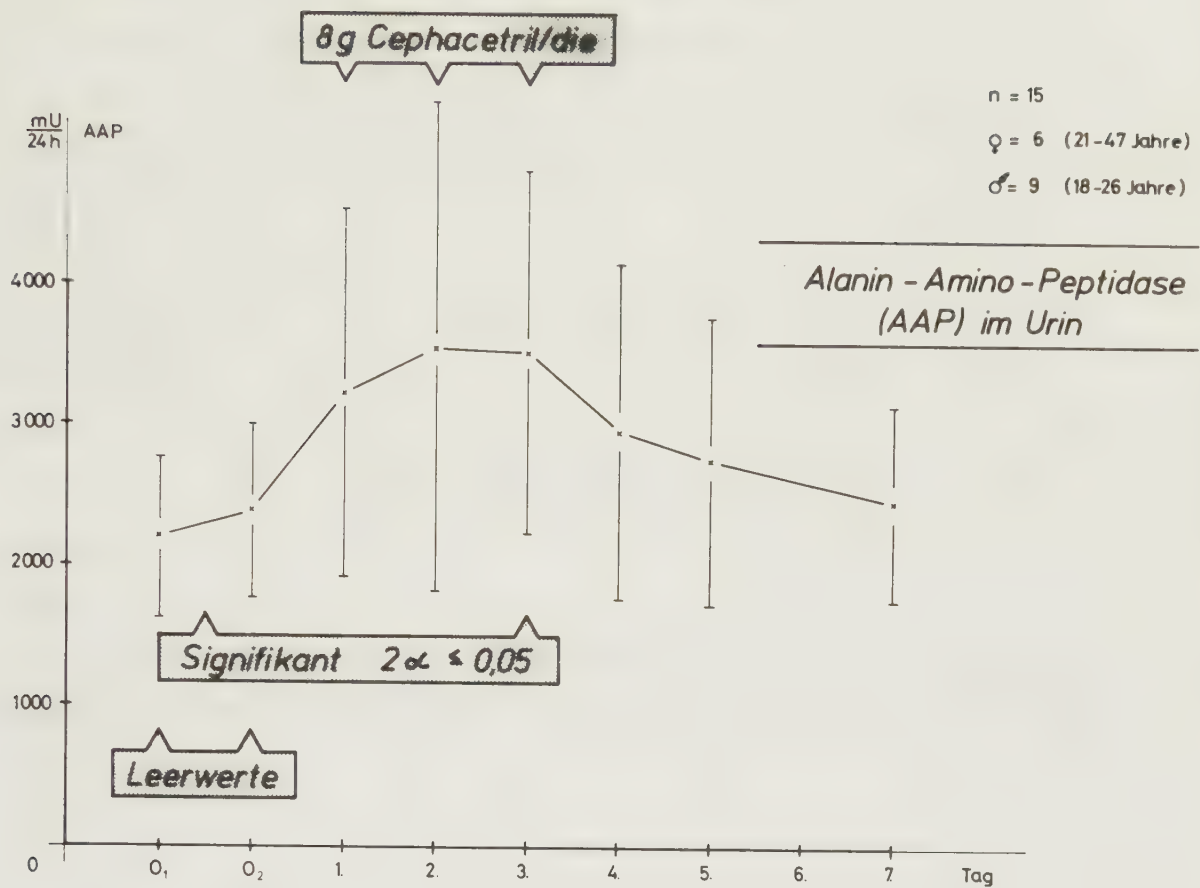


Abb. 12

- AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
- Mittelwerte von 15 Probanden
- Standardabweichungen

Die höchste AAP-Aktivität wurde bei Proband 208 (Tag 1) mit 7126 mU/24 h ermittelt. Als geringste Ausscheidung fanden sich bei der Nr. 200 (Tag 3) 1032 mU/24 h. Diese durchaus unterschiedliche Reaktion auf Cephacetril führte zu einer Aufspaltung der Ergebnisse in zwei Gruppen, nämlich in Responder und Non-Responder. Als Zugehörigkeitsbedingung zur Respondergruppe wurde mindestens ein einmaliger Anstieg der AAP-Aktivität > 1200 gegenüber dem höheren der beiden eigenen Leerwerte gefordert. Der so erreichte Wert mußte > 3500 mU/24 h sein, also außerhalb des Normalwerthistogramms (Abb. 3) für die AAP liegen. Entsprechend diesen Bedingungen wies die Respondergruppe 9 (1 weiblich, 8 männlich) und die Non-Respondergruppe 6 (4 weiblich, 2 männlich) Mitglieder auf. Die graphische Darstellung gibt Abb. 13 wieder. Tabelle 17 führt die zugehörigen Daten auf.

Heraushebenswert erschien die Lage des höchsten Mittelwertes der Non-Respondergruppe bei Tag 3, dem 3. und somit letzten Tag der Cephacetrilmedikation (2311 mU/24 h). In der Respondergruppe fand sich als Maximum Tag 2, knapp gefolgt von Tag 3 (Tag 2: 4458,4 mU/24 h; Tag 3: 4304,9 mU/24 h). Dieser Sachlage trug die Betrachtung der Mittelwerte aller 15 Probanden Rechnung. Tag 2 wies auch hier das höchste Ergebnis (3543,7 mU/24 h) auf, unterschied sich dabei aber nur minimal von Tag 3 mit der zweithöchsten Enzymaktivität (3519,5 mU/24 h). (Tabellen 16 und 17).

Mit Abb. 14 wurde ein Einzelverlauf dargestellt. Der Aktivitätsanstieg beträgt gegen den höheren Leerwert 2087 mU/24 h) (Weitere Einzelverläufe unter 4.1.2.5.)

Responder		8 g Cephacetril/die						
Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h	Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
201	1848	1522	1933	3284	4935	2793	-	1615
204	-	3168	4428	4982	5904	5501	-	2450
206	1609	2603	5841	3218	3448	3391	3225	3218
208	2480	2477	4493	7126	4910	4255	4680	2775
209	3437	2066	4580	4987	4306	4368	4149	4207
210	-	2718	4438	5076	4933	2193	2538	2334
213	2306	2568	3454	2562	3781	3107	1833	2216
214	1778	2616	2399	2523	2995	4447	4069	1904
216	2696	3484	3537	6368	3532	2162	3098	2323
n	7	9	9	9	9	9	7	9
$\bar{x}$	2307,7	2580,2	3900,3	4458,4	4304,9	3579,7	3370,3	2560,2
s	637,2	567,7	1204,3	1656,7	937,9	1136,4	996,8	770,8
VK	27,6	22,0	30,9	37,2	21,8	31,7	29,6	30,1
Vol. $\bar{x}$	1046,6	1313,3	1594,2	1655,1	1729,4	1490,7	1182	1094,4

Tabelle 17 - AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
 - Responder
 n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h, s = Standardabweichung,
 VK = Variationskoeffizient, Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

Non-Responder			8 g Cephacetril/die						
Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h	Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h	
200	1426	1893	1536	1843	1032	2100	2640	1997	
202	1528	2928	1867	1367	3142	1809	2002	2813	
205	2622	-	2650	2904	2404	2300	1663	2163	
207	2608	2444	2767	2794	2193	2521	2301	3172	
215	2120	1556	2873	2129	2580	1729	1684	1686	
224	2014	1414	1438	1992	2695	1598	1787	1900	
n	6	5	6	6	6	6	6	6	
$\bar{x}$	2053,0	2047,0	2188,5	2171,5	2341,0	2009,5	2012,8	2288,5	
s	511,2	632,3	649,4	585,4	716,0	358,4	389,4	578,0	
VK	24,9	30,9	29,7	27,0	30,6	17,8	19,3	25,3	
$\overline{Vol.x}$	1147,8	1087,0	944,7	1101,7	972,2	875,2	1225,0	999,2	

Tabelle 17 - AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation - Non-Responder

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h, s = Standardabweichung
 VK = Variationskoeffizient, Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

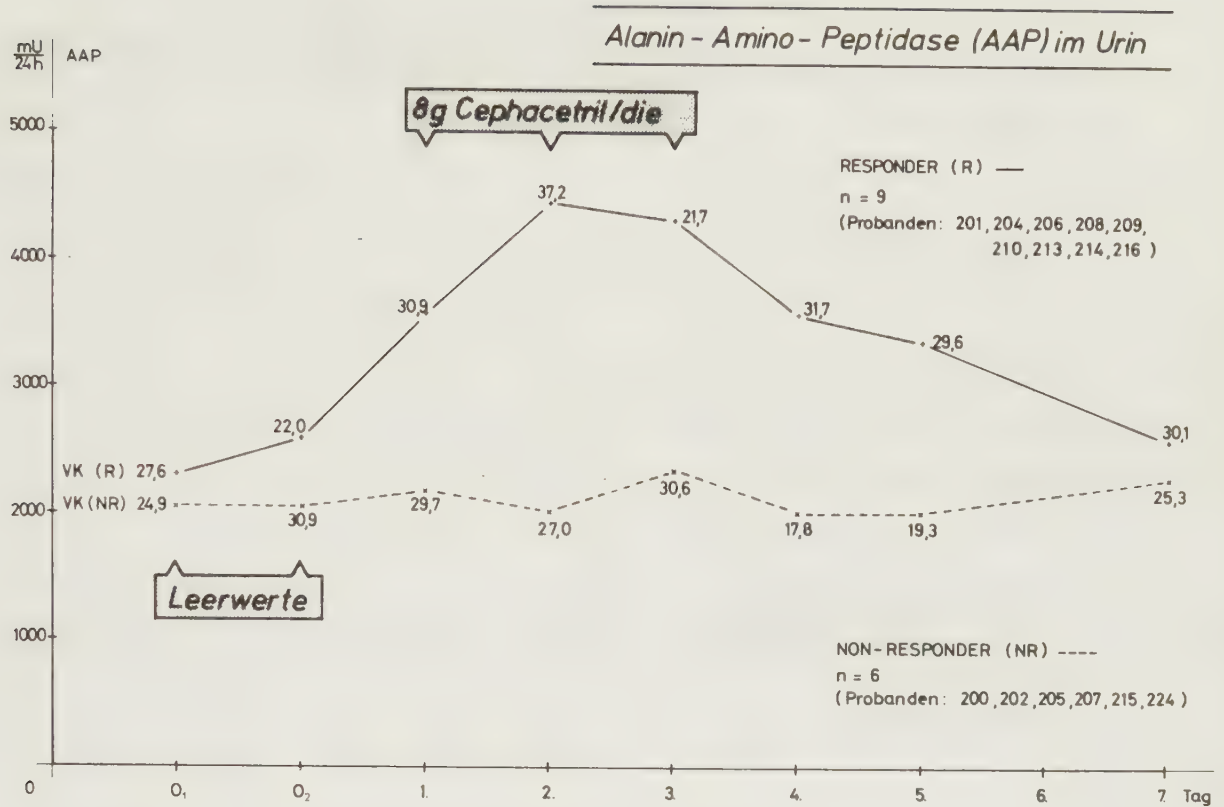


Abb. 13

- AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
- Mittelwerte Responder und Non-Responder
- VK = Variationskoeffizient

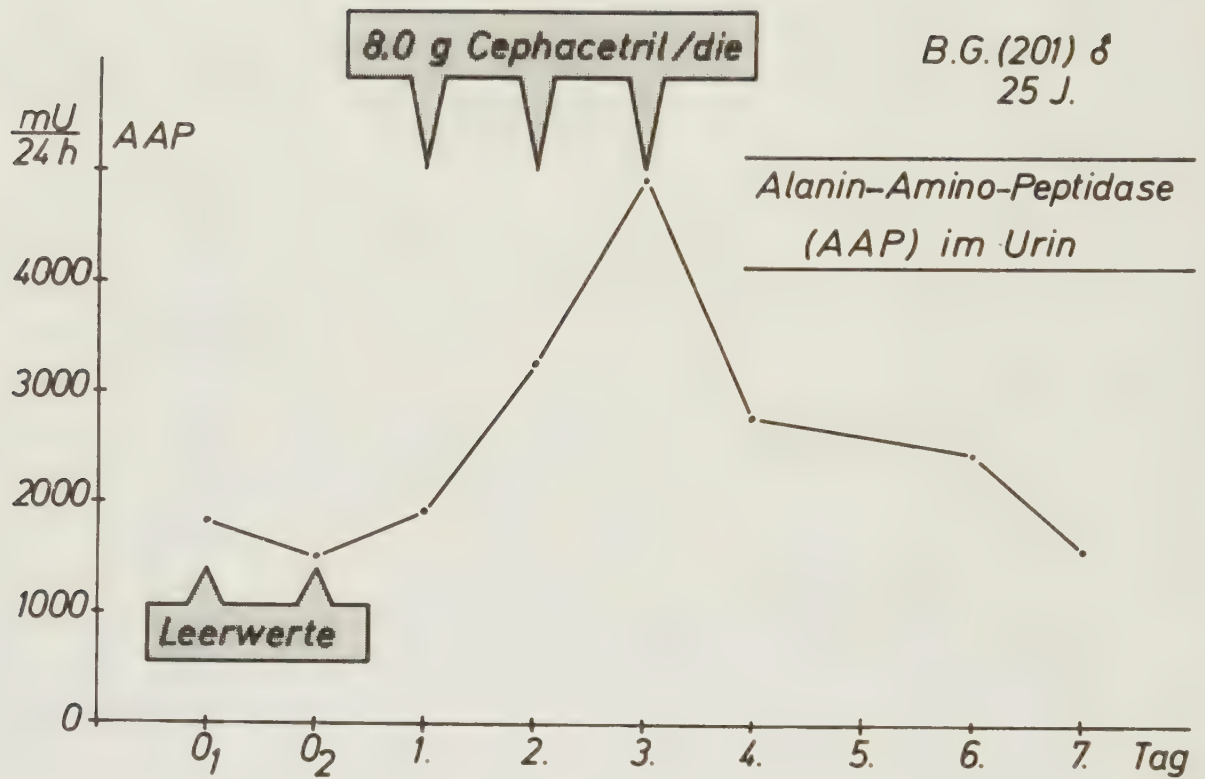


Abb. 14 - AAP im 24 h-Urin (Proband 201) vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetril-applikation

4.1.2.1.2. AAP im Urin: Cephazolinwirkung

Wie bereits bei 4.1.1.1. angeführt, nahmen an diesem Zusatzversuch 5 Probanden teil, wobei nur 4 davon in die Auswertung einbezogen werden konnten. Die höchste Enzymaktivität trat bei Nr. 219 am Tag 2 mit 4001 mU/24 h auf. Das niedrigste Ergebnis, repräsentiert durch Nr. 211, Tag 0₂, waren 1096 mU/24 h. Tabelle 18 informiert über die Einzelwerte.

Auffallend ist hier die kaum merkliche Differenz zwischen dem maximalen Mittelwert am Tag 2 (2550,5 mU/24 h) und dem Mittelwert des Leerwerttages 0₁ (2524,5 mU/24 h).

Auch das höchste Resultat (4001 mU/24 h) lag mit 846 mU/24 h nur in einer Größenordnung über seinem eigenen höheren Leerwert, die unter Zugrundelegung der gleichen Maßstäbe wie in 4.1.2.1.1. zur Registrierung als Non-Responder geführt hätte. Diese Verhältnisse spiegelt Abb. 15 wider. (Abb. der Einzelverläufe unter 4.1.2.5.).

Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	6 g Cephalozolin/die					
			Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h	Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
211	2438	1096	2134	1539	1815	1412	1253	2474
212	2558	2838	2385	2166	3085	2424	2865	2777
219	3155	2088	2482	4001	1582	2149	3655	2959
225	1947	2128	2387	2496	2130	1861	2259	1334
n	4	4	4	4	4	4	4	4
$\bar{x}$	2524,5	2037,5	2347,0	2550,5	2153,0	1961,5	2508,0	2461,0
s	496,5	716,0	149,0	1045,3	660,7	432,5	1013,3	756,3
VK	19,7	35,1	6,3	41,0	30,7	22,0	40,4	30,7
$\bar{Vol} \cdot \bar{x}$	1074,6	887,8	1147,5	1414,5	900,0	927,5	1213,5	1164,0

Tabelle 18 - AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalozolinapplikation

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h

s = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient

Vol. $\cdot\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

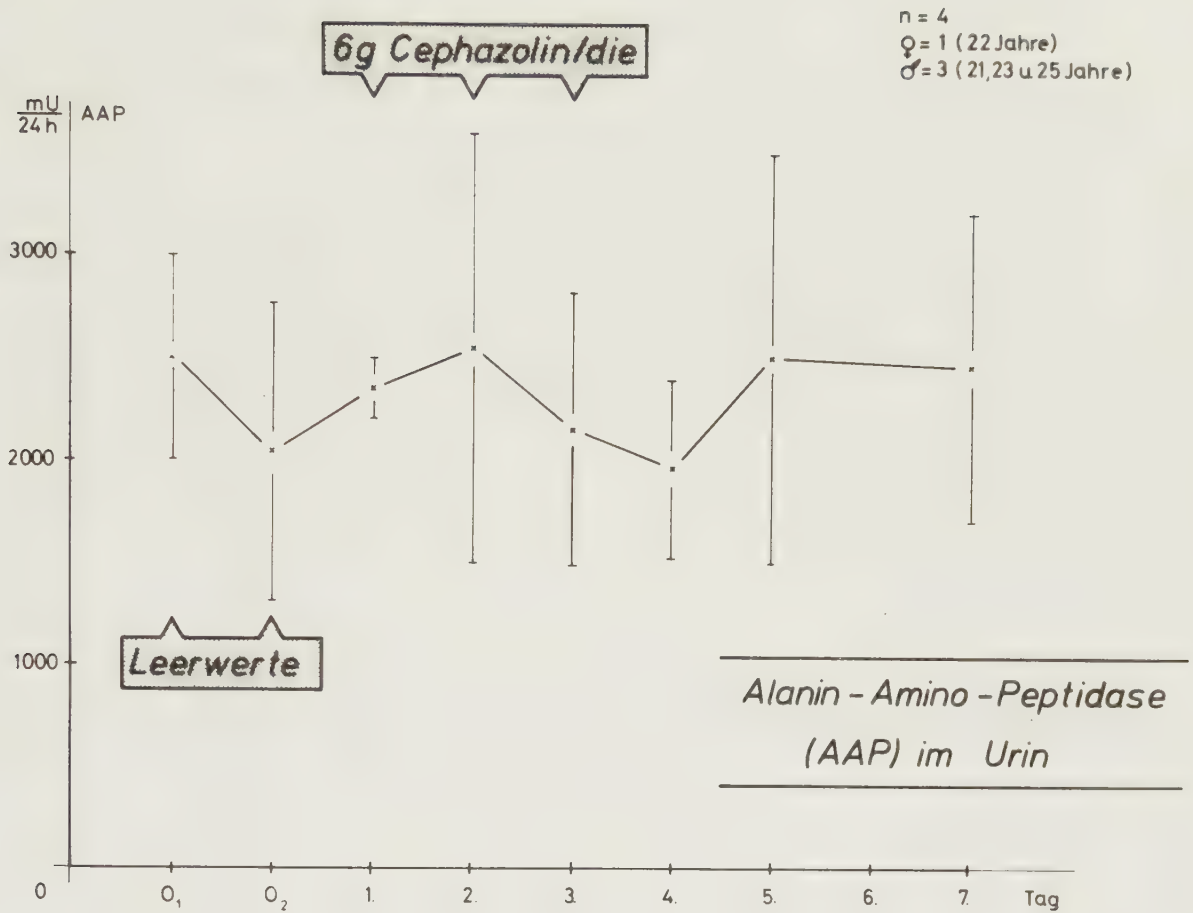


Abb. 15

- AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephazolinapplikation
- Mittelwerte von 4 Probanden
- Standardabweichungen

4.1.2.1.3. AAP im Urin: Cephalotinwirkung

Das Probandenkollektiv umfaßte in dieser Ergänzungsstudie, wie schon an anderer Stelle erwähnt, 5 Probanden. Die höchste Aktivität war mit 3488 mU/24 h bei Nr. 218, Tag 7, zu ermitteln, die niedrigste bei Nr. 222, Tag 4, mit 898 mU/24 h. Tabelle 19 führt die Ergebnisse im einzelnen auf.

Abb. 16 demonstriert die Mittelwerte im neuntägigen Verlauf. Die größte Differenz gegen den Mittelwert des Leertags O_2 zeigt der des Tages 7 mit nur 480 mU/24 h. (Einzelverläufe unter 4.1.2.5. ersichtlich). Alle Probanden wären nach den Bedingungen von 4.1.2.1.1. als Non-Responder einzustufen.

Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	8 g Cephalotin/die					
			Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h	Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
217	2227	2031	3041	1785	2752	1720	1498	1900
218	2139	2145	1539	2095	3159	2283	2519	3488
220	3204	2737	1853	2658	2635	1506	2472	2104
222	1312	1870	1803	1981	1200	898	1904	2943
223	1203	1506	1282	1802	1043	1512	1454	2254
n	5	5	5	5	5	5	5	5
$\bar{x}$	2017,0	2057,8	1903,6	2064,2	2157,8	1583,8	1969,4	2537,8
s	810,5	449,8	675,6	356,1	967,4	497,2	511,6	660,0
VK	40,2	21,9	35,5	17,2	44,8	31,4	26,0	26,0
$\overline{\text{Vol. x}}$	1339	1234	1358	1207,2	1322,6	1119	1172,6	1439

Tabelle 19 - AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h
s = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient
Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

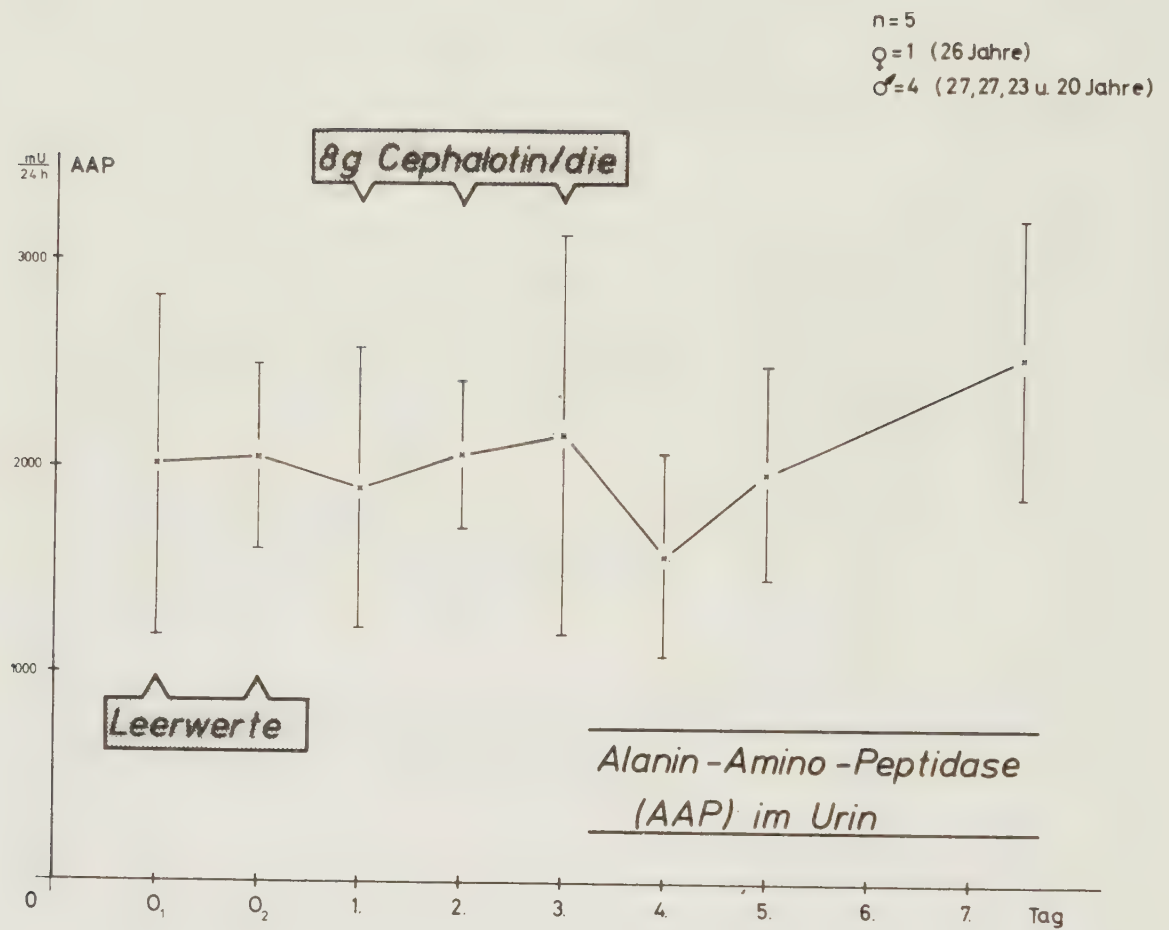


Abb. 16

- AAP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation
- Mittelwerte von 5 Probanden
- Standardabweichungen

4.1.2.2. Verhalten der alkalischen Phosphatase (AP)

4.1.2.2.1. AP im Urin: Cephacetrilwirkung

Das höchste Ergebnis (2887 mU/24 h) war bei Proband 205 am Tag 0₂ festzustellen. Am geringsten war die Enzymaktivität bei Teilnehmer Nr. 215 am Tag 1 (95 mU/24 h). Tag 7 zeigte mit 604,9 mU/24 h den höchsten, der Leerwerttag 0₂ mit 395,2 mU/24 h den niedrigsten Mittelwert. Einen genauen Aufschluß vermittelt Tab. 20. Abb. 17 bietet die graphische Darstellung der entsprechenden Mittelwerte.

Der Wilcoxon-Test ($2\alpha \leq 0,05$) konnte keinen signifikanten Anstieg von Tag 5 gegenüber den Mittelwerten beider Leerwerttage attestieren. In Abb. 18 wurden noch 4 Einzelverläufe abgebildet.

Proband	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂	8 g Cephacetril/die				Tag 4	Tag 5	Tag 7	Mittelwert beider Leer- werttage
			Tag 1	Tag 2	Tag 3					
Nr.	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h
200	365	186	132	1146	252	208	526	265	275,5	
201	104	106	368	614	854	365	278	779	105	
202	351	163	171	656	163	512	396	546	257	
204	503	183	769	155	264	434	1164	1570	343	
205	560	2887	1235	580	427	741	349	577	1723,5	
206	542	162	193	592	796	560	806	929	352	
207	136	231	556	579	649	562	492	172	183,5	
208	698	215	468	1233	1211	825	1054	863	452	
209	806	254	283	277	251	148	196	746	530	
210	201	136	170	729	137	165	158	734	337	
213	132	169	181	686	444	931	655	134	150,5	
214	403	357	731	649	971	430	613	625	380	
215	421	279	95	389	416	485	327	267	350	
216	696	439	266	199	581	464	252	513	567,5	
224	690	161	-	451	347	424	735	353	425,5	
n	15	15	14	15	15	15	15	15		
$\bar{x}$	440,5	395,2	402,6	595,7	517,5	483,7	533,4	604,9	417,9	
s	228,3	694,9	327,7	299,9	319,4	225,0	304,9	367,0		
VK	51,8	175	81,4	50,3	61,7	46,5	57,2	60,7		
$\bar{Vol.x}$	1198,9	1371,5	1434,4	1433,7	1426,5	1244,5	1201,9	1056,3	1285,2	

Tabelle 20 - AP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h, s = Standardabweichung
VK = Variationskoeffizient, Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

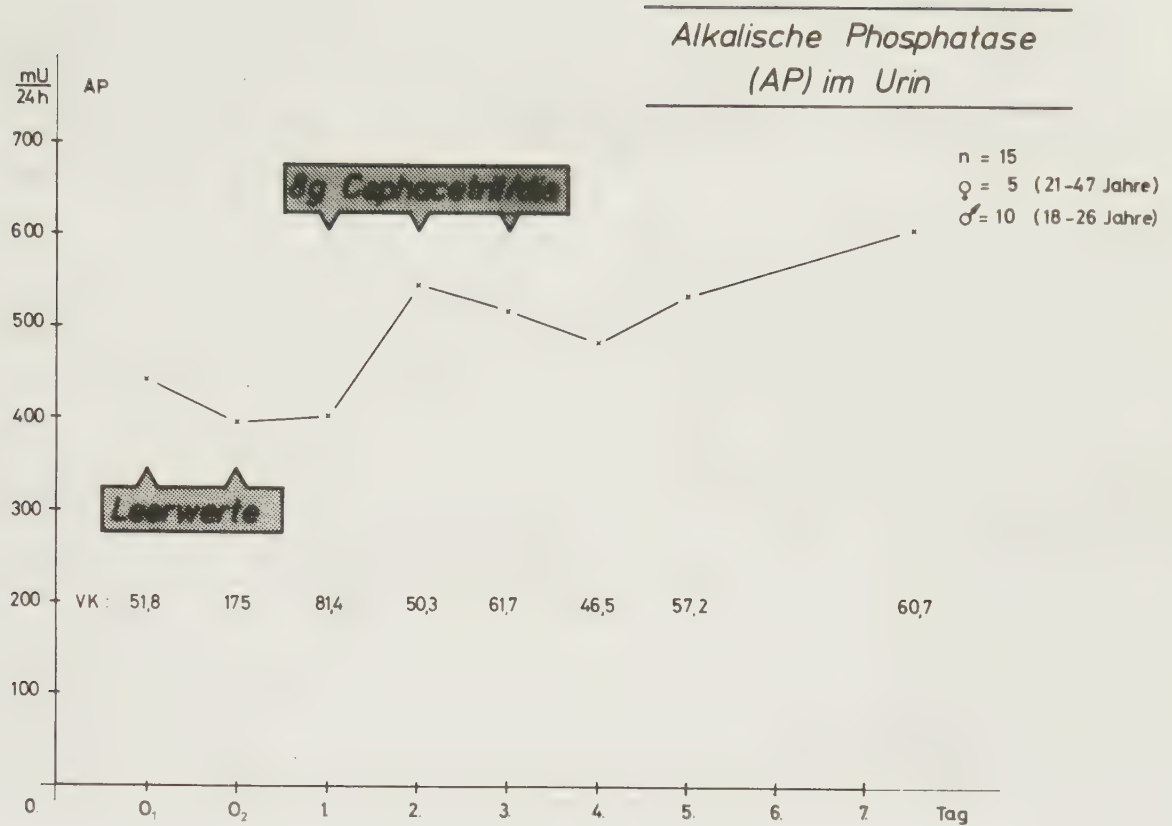


Abb. 17

- AP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
- Mittelwerte von 15 Probanden
- VK = Variationskoeffizient

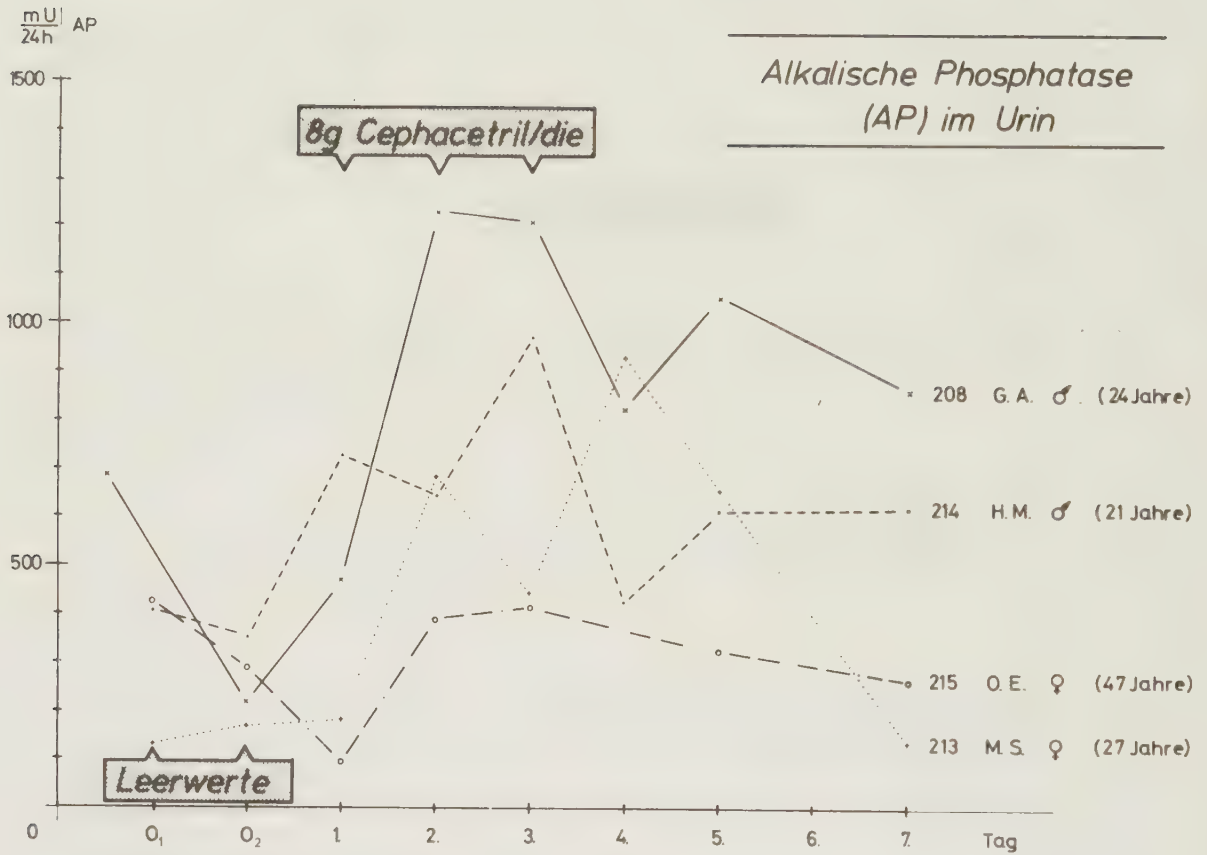


Abb. 18 - AP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
- Einzelverläufe

4.1.2.2.2. AP im Urin: Cephazolinwirkung

Dem niedrigsten Resultat (Nr. 219, Tag 3) mit 17 mU/24 h waren hier 1005 mU/24 h (Nr. 225, Tag 7) gegenüberzustellen. Bei den Mittelwertvergleichen nahm Tag 7 mit 373 mU/24 h die Spitzenstellung ein. Die geringste Aktivität hatte Tag 0₁ (189,5 mU/24 h) aufzuweisen. Tab. 21 verdeutlicht dies, Abb. 19 zeigt das Verhalten der Mittelwerte im neuntägigen Verlauf.

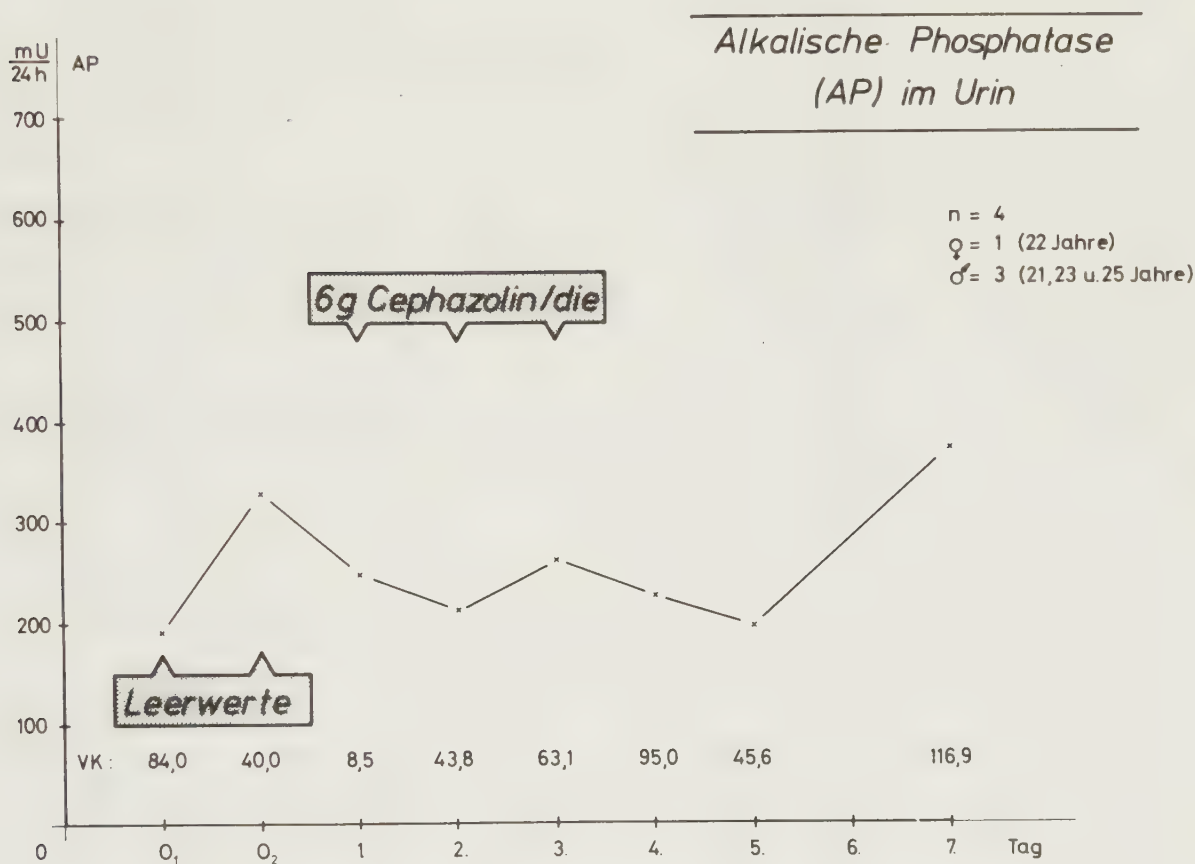


Abb. 19

- AP im 24 h-Urin, vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephazolinapplikation
- Mittelwerte von 4 Probanden
- VK = Variationskoeffizient

Proband Nr.	6 g Cephazolin/die							
	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h	Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
211	309	481	270	230	337	462	224	104
212	40	281	259	251	378	39	70	320
219	65	379	221	79	17	49	205	63
225	344	174	245	294	316	353	279	1005
n	4	4	4	4	4	4	4	4
$\bar{x}$	189,5	328,8	248,8	213,5	262,0	225,8	194,5	373,0
s	159,2	131,6	21,1	93,5	165,4	214,6	88,7	436,2
VK	84,0	40,0	8,5	43,8	63,1	95,0	45,6	116,9
$\bar{Vol.x}$	1074,6	887,7	1147,5	1414,5	900,0	927,5	1213,5	1164,0

Tabelle 21 - AP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephazolinapplikation

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h
s = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient
Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

4.1.2.2.3. AP im Urin: Cephalotinwirkung

Zu einem Vergleich der höchsten mit der niedrigsten Enzymaktivität waren hier Nr. 223, Tag 4, (755 mU/24 h) und Nr. 220, Tag 1, (36 mU/24 h) heranzuziehen. Bei den Mittelwerten ragte Tag 6 mit 418,2 mU/24 h als Maximum heraus. Das entsprechende Minimum ist am Tag 0₁ (193,6 mU/24 h) aufzufinden. Die Einzelergebnisse wurden in Tab. 22 zusammengefaßt, die Mittelwertskurven in Abb. 20 aufgetragen.

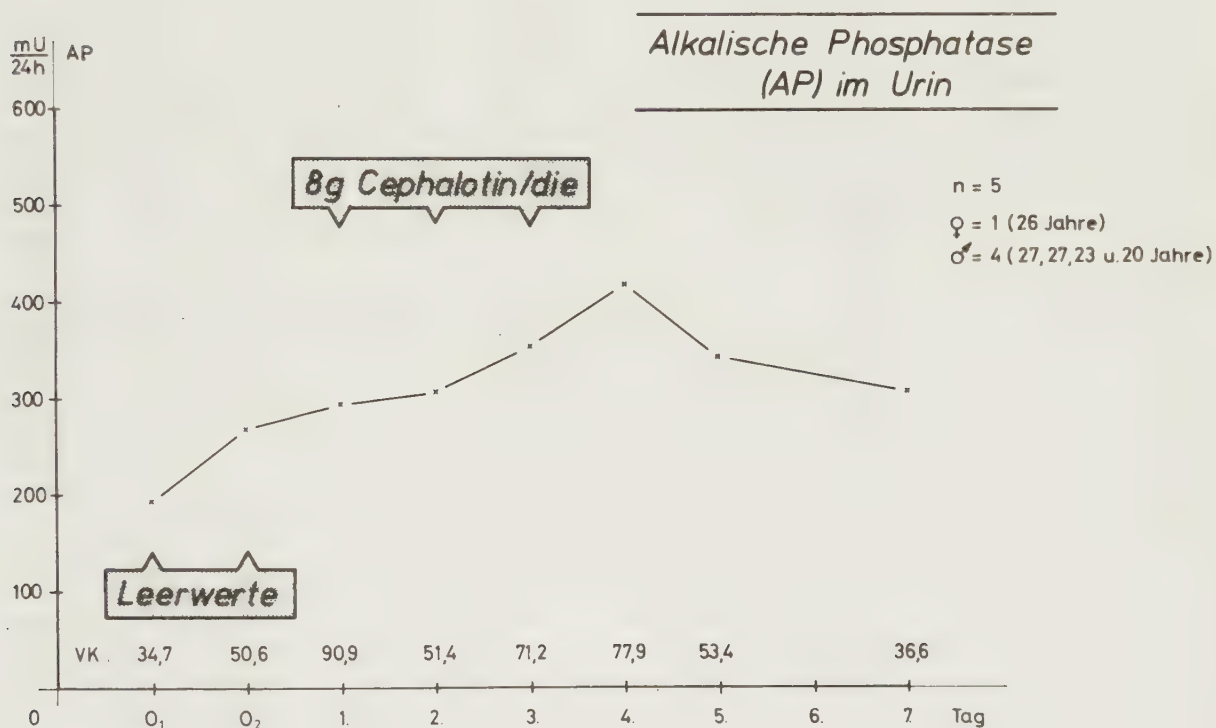


Abb. 20

- AP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation
- Mittelwerte von 5 Probanden
- VK = Variationskoeffizient

Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	8 g Cephalotin/die			Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
			Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h			
217	267	150	719	559	404	111	518	124
218	217	233	216	182	382	398	417	349
220	115	143	36	249	62	742	320	332
222	131	407	133	357	191	85	40	434
223	238	429	364	187	725	755	242	318
n	5	5	5	5	5	5	5	5
$\bar{x}$	193,6	272,4	293,6	306,8	352,8	418,2	343,8	311,4
s	67,1	137,8	266,5	157,6	251,4	325,6	183,7	114,1
VK	34,7	50,6	90,8	51,4	71,2	77,9	53,4	36,6
Vol. $\bar{x}$	1339,0	1234,0	1358,0	1207,2	1322,6	1119,0	1172,6	1439,0

Tabelle 22 - AP im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h
s = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient
Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

4.1.2.3. Verhalten der gamma-Glutamyltransferase (gamma-GT)

4.1.2.3.1. Gamma-GT im Urin: Cephacetrilwirkung

Die beträchtliche Spannweite der gamma-GT-Enzymaktivität dokumentierte sich bereits bei der Betrachtung ihrer Normalwerte. Korrespondierend dazu wurden als Maximum der Einzelergebnisse 26726 mU/24 h (Proband 206, Tag 7) aufgefunden, wohingegen sich als Minimum 56 mU/24 h (Nr. 207, Tag 0₂) ergaben. Der Mittelwertsvergleich erbrachte mit 8964,9 mU/24 h für Tag 7 das höchste Ergebnis. Das niedrigste war bei Tag 0₂ anzusiedeln (3724,4 mU/24 h). Im Wilcoxon-Test ($2\alpha \leq 0,05$) ließ sich ein signifikanter Anstieg von Tag 7 gegenüber den Mittelwerten der Leerwerttage errechnen. Tab. 23 informiert im Detail. In Abb. 21 wurden die Mittelwerte der einzelnen Tage abgebildet. Abb. 22 demonstriert noch einige Einzelverläufe.

Proband	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂	8 g Cephacetril/die			Tag 4	Tag 5	Tag 7	Mittelwert beider Leer- werttage
			Tag 1	Tag 2	Tag 3				
Nr.	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h	mU/24 h
200	247	4086	2257	7219	1367	1661	3291	2442	2166,5
201	5542	1435	3334	3078	417	553	1761	6289	3488,5
202	953	5602	6597	2750	6391	8882	6411	7932	3277,5
204	13762	3866	1676	8580	6620	5988	12602	7226	8814
205	1613	2641	4216	110	918	971	2720	1293	2127
206	1719	5511	12999	6797	11966	14306	12651	26726	3615
207	7838	56	4715	408	2599	2219	4995	9420	3947
208	1943	718	1822	10561	16834	7419	11450	9389	1330,5
209	12421	5512	216	5814	4676	3735	449	9716	8966,5
210	60	1130	7360	8685	150	3074	4138	9897	595
213	1946	1818	2317	3521	4228	4638	5214	4464	1882
214	4324	2120	110	66	5460	4399	8119	1990	3222
215	4841	3008	4480	4239	4564	5895	4913	6855	3924,5
216	4843	8586	6921	5046	8520	10109	7640	13588	6714,5
224	5902	9795	-	6009	6728	9674	91	17247	7848,5
n	15	15	14	15	15	15	15	15	
<u>x</u>	4530,3	3724,4	4218,9	4858,9	5429,2	5567,8	5763	8964,9	4127,3
s	4161,8	2840,7	3437,3	3248,3	4527,7	3901,3	4071,7	6509,7	
VK	91,9	76,3	81,5	66,9	83,4	70,1	70,7	72,6	
<u>Vol.x</u>	1198,9	1280,3	1371,5	1433,7	1426,5	1244,5	1269,6	1056,3	1239,6

Tabelle 23 - Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h, s = Standardabweichung
VK = Variationskoeffizient, Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

n	15	15	14	15	15	15	15	15	
$\bar{x}$	4530,3	3724,4	4218,9	4858,9	5429,2	5567,8	5763	8964,9	4127,3
s	4161,8	2840,7	3437,3	3248,3	4527,7	3901,3	4071,7	6509,7	
VK	91,9	76,3	81,5	66,9	83,4	70,1	70,7	72,6	
Vol. $\bar{x}$	1198,9	1280,3	1371,5	1433,7	1426,5	1244,5	1269,6	1056,3	1239,6

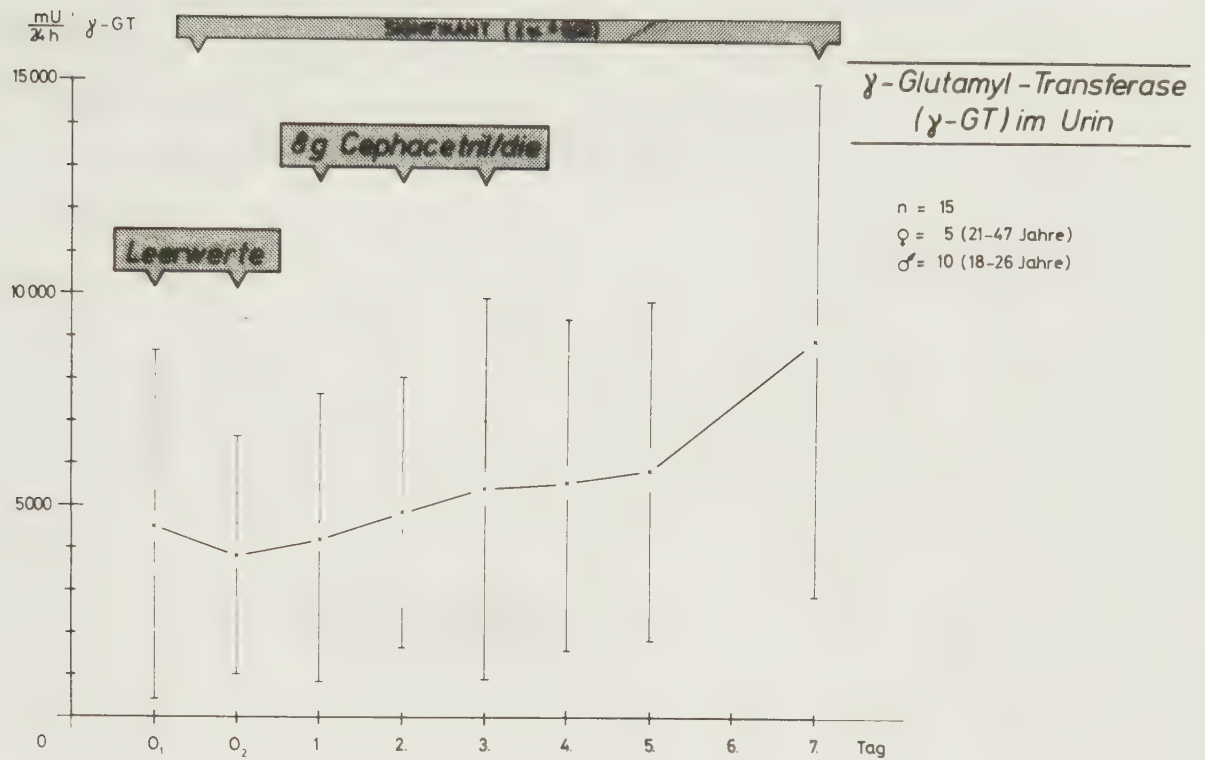


Abb. 21

- Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
- Mittelwerte von 15 Probanden
- Standardabweichungen

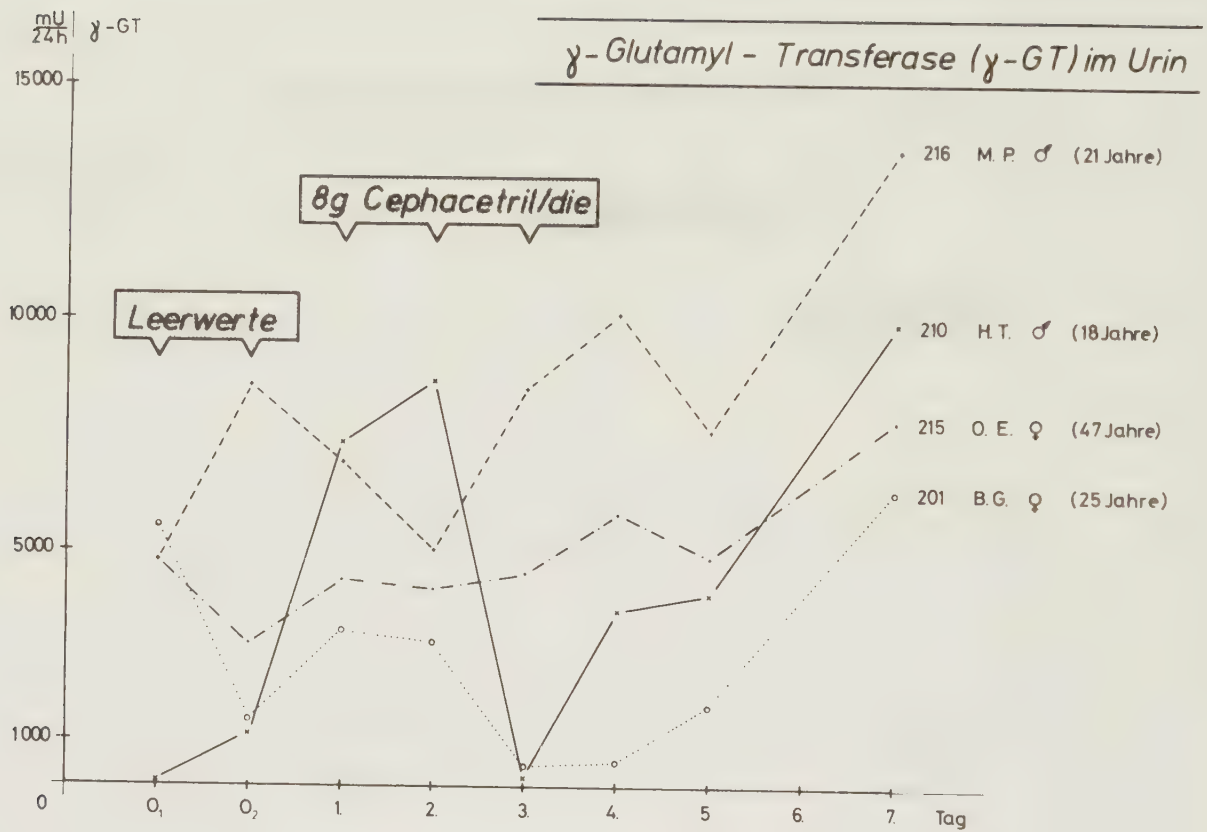


Abb. 22 - Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation
- Einzelverläufe

4.1.2.3.2. Gamma-GT im Urin: Cephazolinwirkung

Die höchste und auch die niedrigste Enzymaktivität fand sich hier am Tag 0₂ (Nr. 219, 21185 mU/24 h; Nr. 211, 406 mU/24 h). Den höchsten Mittelwert hatte Tag 1 mit 8154,3 mU/24 h, den niedrigsten Tag 0₁ (5116,8 mU/24 h) aufzuweisen. Auffallend war die geringe Differenz zwischen dem maximalen Mittelwert und dem des Tages 0₂ (143,8 mU/24 h). Die genauen Daten vermittelt Tab. 24, eine graphische Darstellung der Mittelwerte findet sich in Abb. 23.

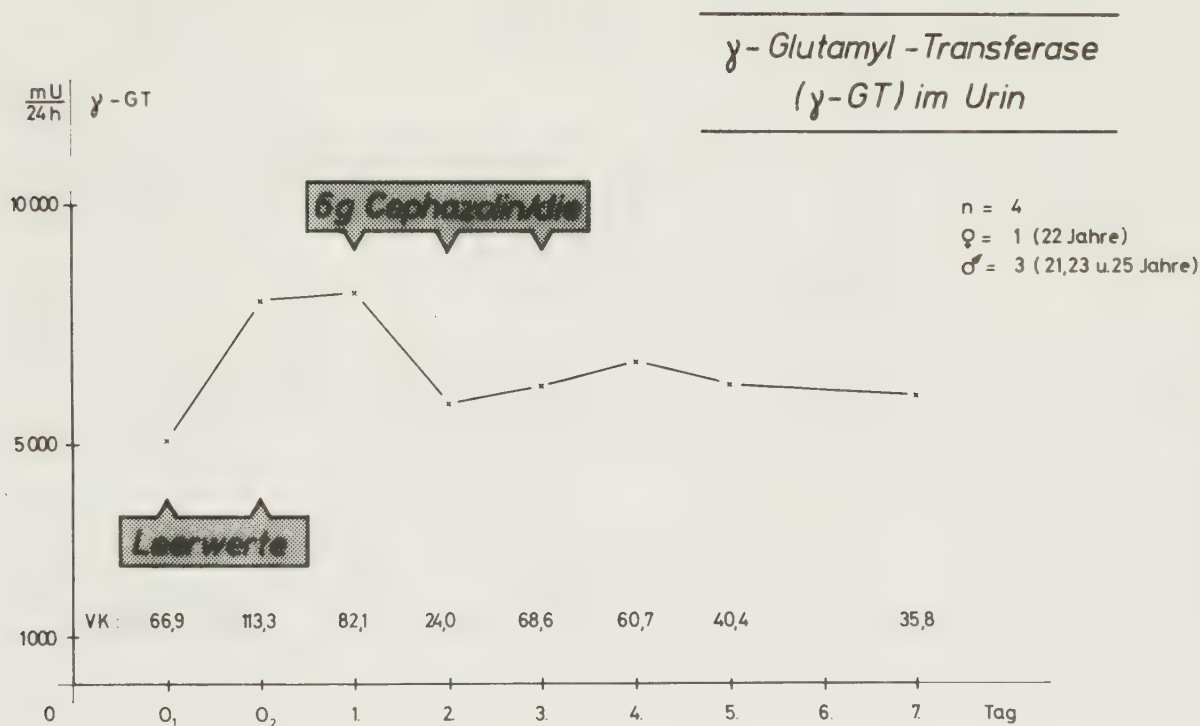


Abb. 23

- Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephazolinapplikation
- Mittelwerte von 4 Probanden
- VK = Variationskoeffizient

Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	6 g Cephazolin/die					Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
			Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h	Tag 6 mU/24 h				
211	2687	406	5592	4615	852	4602	4490	5453		
212	1923	5652	2900	4705	5296	2882	6207	4184		
219	6690	21185	17966	7123	10974	12315	9859	5498		
225	9197	4799	6159	7099	7734	7349	4503	9226		
n	4	4	4	4	4	4	4	4		
$\bar{x}$	5116,8	8010,5	8154,3	5885,5	6214,0	6787,0	6264,8	6090,3		
s	3422,2	9078,7	6693,9	1415,6	4264,7	4119,0	2528,2	2177,4		
VK	66,9	113,3	82,1	24,0	68,6	60,7	40,4	35,8		
$\overline{Vol.x}$	1074,6	887,8	1147,5	1414,5	900,0	927,5	1213,5	1164,0		

Tabelle 24 - Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephazolinapplikation

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h
s = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient
Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

4.1.2.3.3. Gamma-GT im Urin: Cephalotinwirkung

Das höchste Ergebnis wurde bei Proband 220, Tag 5, (12959 mU/24 h), das niedrigste bei der Nr. 217, Tag 0₂, (939 mU/24 h) gemessen. Die Mittelwerte boten folgendes Bild: Maximum bei Tag 7 (8006,8 mU/24 h), Minimum bei Tag 2 (3452,2 mU/24 h). Eine Auflistung der Enzymaktivitäten präsentiert Tab. 25, die Mittelwerte im neuntägigen Verlauf Abb. 24.

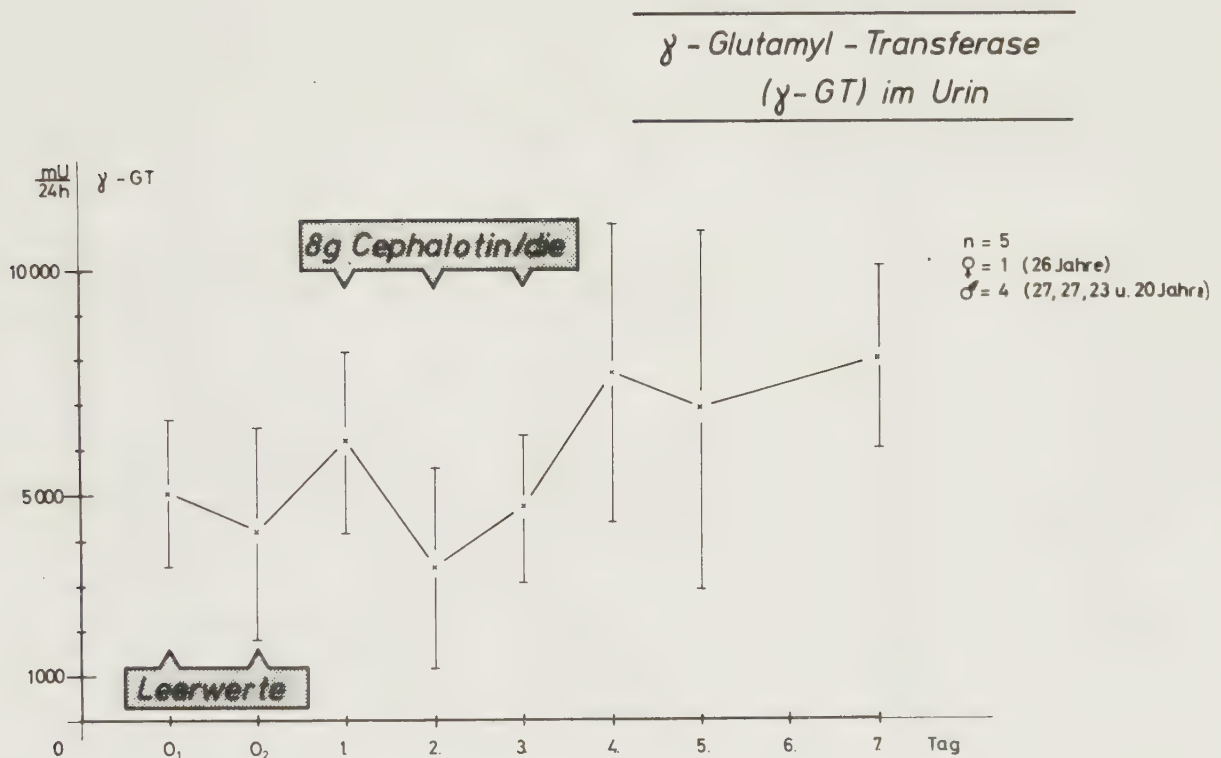


Abb. 24

- Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation
- Mittelwerte von 5 Probanden
- Standardabweichungen

Proband Nr.	Tag 0 ₁ mU/24 h	Tag 0 ₂ mU/24 h	8 g Cephalotin/die				Tag 4 mU/24 h	Tag 5 mU/24 h	Tag 7 mU/24 h
			Tag 1 mU/24 h	Tag 2 mU/24 h	Tag 3 mU/24 h				
217	4799	939	4687	1220	2838	6409	5421	7390	
218	7873	4138	9511	5705	4769	5549	8754	9460	
220	4619	4547	5252	5711	7074	11876	12959	8256	
222	3661	4167	4731	3235	3682	4268	2908	4862	
223	4715	7261	6899	1390	5146	10456	4557	10066	
n	5	5	5	5	5	5	5	5	
$\bar{x}$	5133,4	4210,4	6216,0	3452,2	4701,8	7711,6	6919,8	8006,8	
s	1598,8	2243,2	2049,1	2205,7	1608,0	3282,8	3992,5	2042,3	
VK	31,1	53,3	33,0	63,9	34,2	42,6	57,7	25,5	
Vol. $\bar{x}$	1339,0	1234,0	1358,0	1207,2	1322,6	1119,0	1172,6	1439,0	

Tabelle 25 - Gamma-GT im 24 h-Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation

n = Stichprobenumfang, $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h
s = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient
Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/24 h

4.1.2.4. Immunologische Ergebnisse

Alle Immunelektrophoreseplättchen waren an der Basis mit 8 Depotlöchern in linearer Anordnung versehen. Von links nach rechts (ausgehend vom Betrachter) wurden fortlaufend die Urinkonzentrate der einzelnen Versuchstage eingebracht. Auf der linken Seite wurden also in die ersten beiden Depots das Harnkonzentrat des 1. bzw. 2. Leerwerttages eingepipettiert. Ausstanzung 8 am rechten Plattenrand enthielt vom eingeeengten Urin des letzten Versuchstages.

Wie schon unter 4.1.1.2. aufgezeigt, gelang es in keinem Fall, für die Leerwerttage O_1 und O_2 (Depots 1 und 2) Alanin-Amino-Peptidase mittels spezifischer Färbung nachzuweisen.

Die Erprobung der 3 Cephalosporinderivate führte zu folgenden Ergebnissen:

Cephacetrilstudie

- spezifische AAP-Färbung

Alanin-Amino-Peptidase ließ sich in 6 Fällen anhand der Präzipitatreaktionen darstellen. Es handelte sich um die Probanden 201 (Peak über Depot 4 und 5), 208 (Peak über Depot 5), 210 (Peak über Depot 3 und 4), 213 (Peak über Depot 5) und 216 (sehr farbschwache Peaks über den Depots 3 bis 8). Die Photographien 1 bis 6 geben näheren Aufschluß, wobei Nr. 2, 3 und 4 bereits das Bild nach angeschlossener unspezifischer Proteinfärbung zeigen. Sie sind jedoch nochmals im Zustand der reinen spezifischen Färbung schematisch unter 4.1.2.5. abgebildet.

Immunelektrophorese

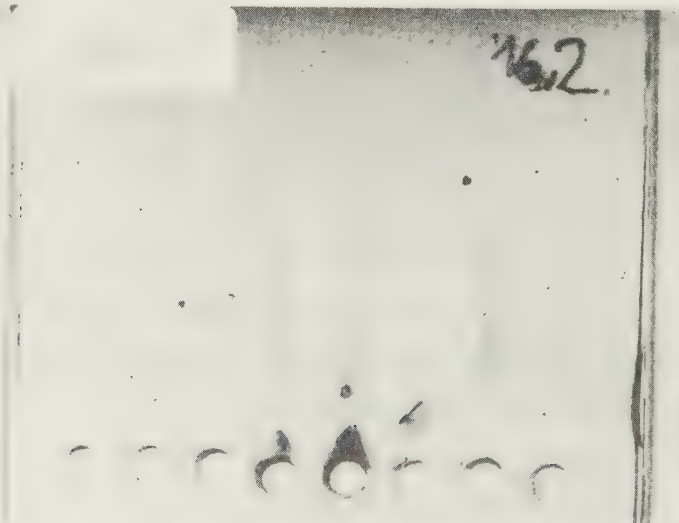
Photographie 1



- Proband 201
- Spezifische AAP-Färbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Immunelektrophorese

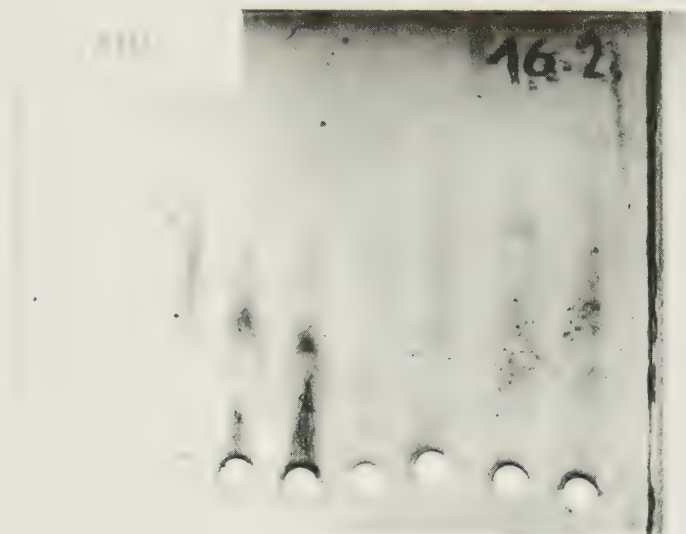
Photographie 2



- Proband 208
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Immunelektrophorese

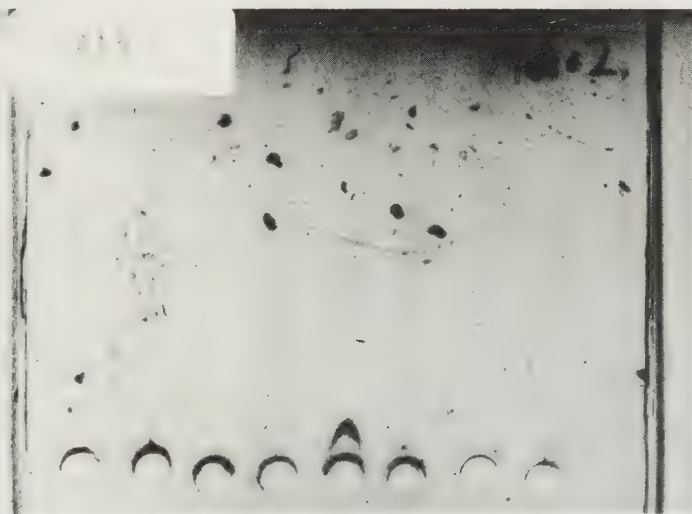
Photographie 3



- Proband 210
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

Immunelektrophorese

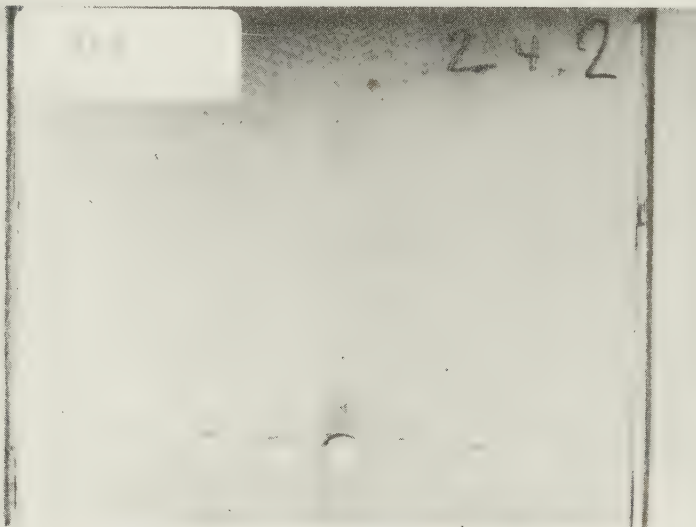
Photographie 4



- Proband 213
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

Immunelektrophorese

Photographie 5



- Proband 214
- Spezifische AAP-Färbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Immunelektrophorese

Photographie 6



- Proband 216
- Spezifische AAP-Färbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

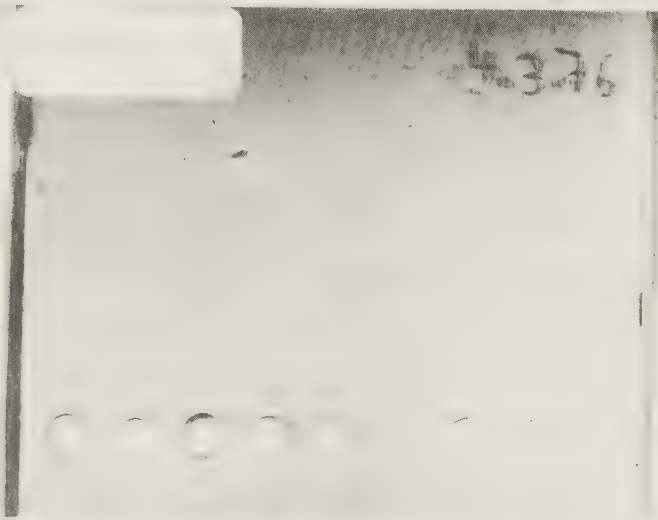
Bei den übrigen neun Versuchsteilnehmern verlief der spezifische AAP-Nachweis negativ (Nr. 200, 202, 204, 205, 206, 207, 209, 215, 224). Auch mehrfach wiederholte Elektrophoreseläufe vermochten ausschließlich dieses Ergebnis zu reproduzieren (Beispiele: Photographie 7 und 8).

- unspezifische Proteinfärbung

Diesem Arbeitsgang wurden alle Plättchen nach erfolgter spezifischer Färbung unterzogen. Bei 11 Probanden (200, 201, 202, 204, 205, 207, 208, 209, 210, 213, 216) waren im Harnkonzentrat Proteine mit Coomassie-Brillantblau darstellbar (Photographie 9, 11, 13, 14). Bis auf 2 Ausnahmen zeigten sich solche Präzipitate an allen Versuchstagen, die Leerwerttage eingeschlossen. Bei den Personen 208 und 210 (Photographie 2 und 3) erzeugten nur die Leerwertkonzentrate keine Banden. Keine Proteine konnten bei den Versuchsteilnehmern 206, 214, 215 und 224 festgestellt werden.

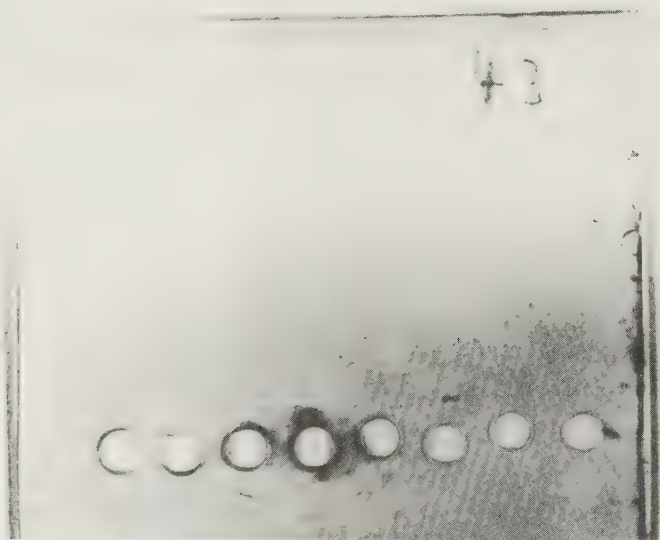
In erneuten Elektrophoreseläufen mit 2 % anstelle vorher eingesetzten 1 % Kaninchenantiserumanteil im Trärgel (und damit erhöhter Antikörperkonzentration) sollte versucht werden, die Proteindarstellung zu verbessern. Die Maßnahme blieb jedoch erfolglos und bewirkte auf allen Elektrophoreseplättchen ein Ausbleiben der zuvor sichtbar gemachten Proteinbanden (Photographie 10 und 12).

Immunelektrophorese
Photographie 7



- Proband 206
- Spezifische AAP-Färbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

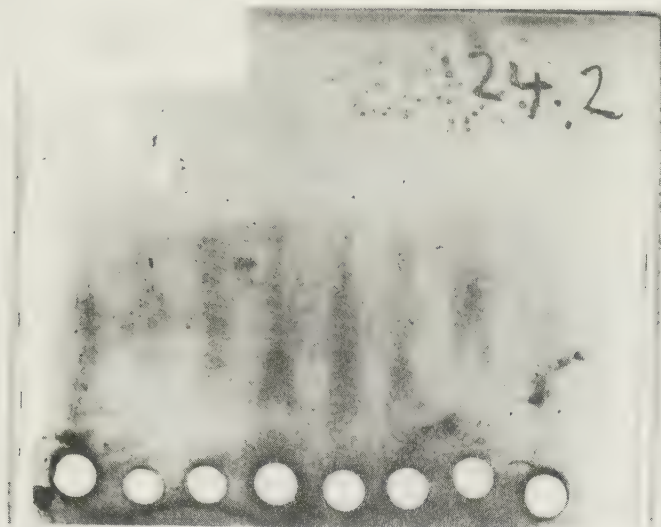
Immunelektrophorese
Photographie 8



- Proband 215
- Spezifische AAP-Färbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

Immunelektrophorese

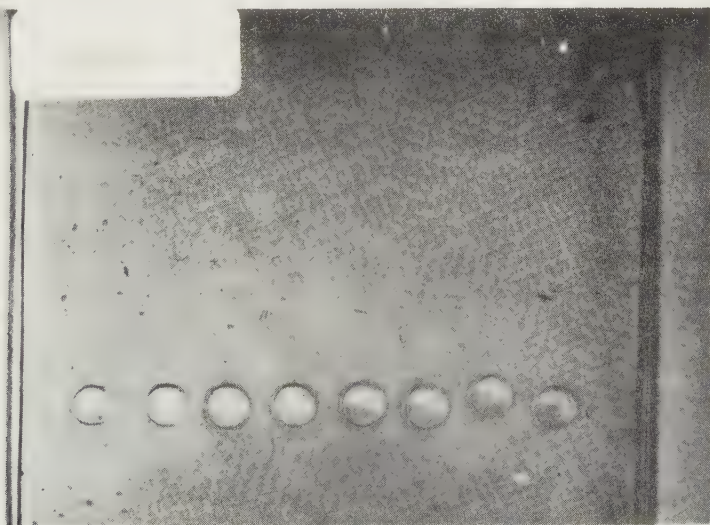
Photographie 9



- Proband 209
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

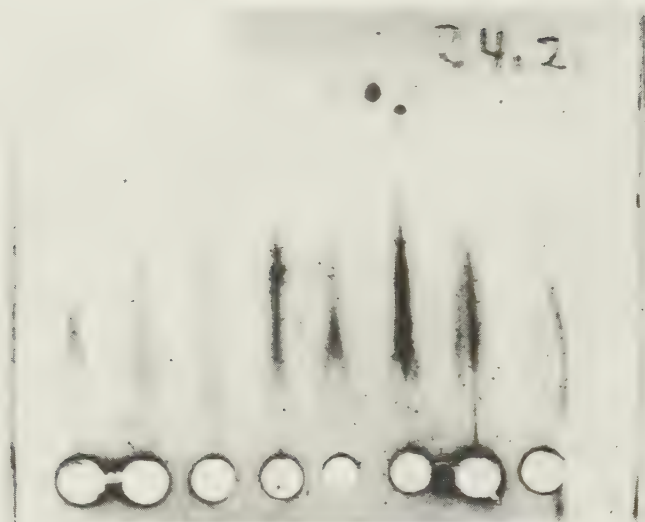
Immunelektrophorese

Photographie 10



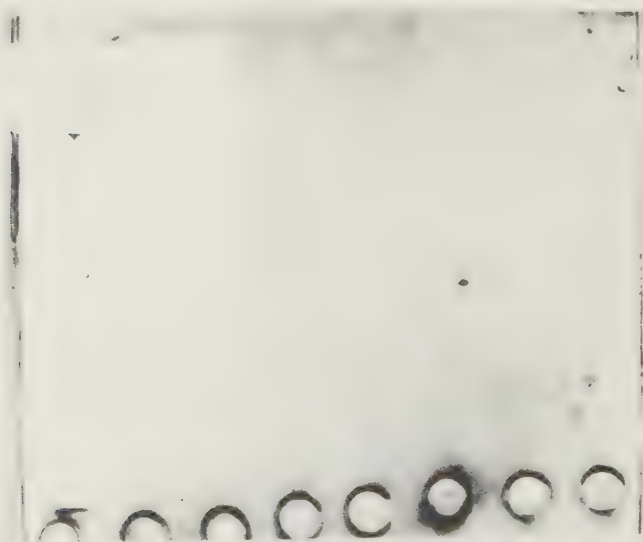
- Proband 209
- Unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 2 %)

Immunelektrophorese
Photographie 11



- Proband 204
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

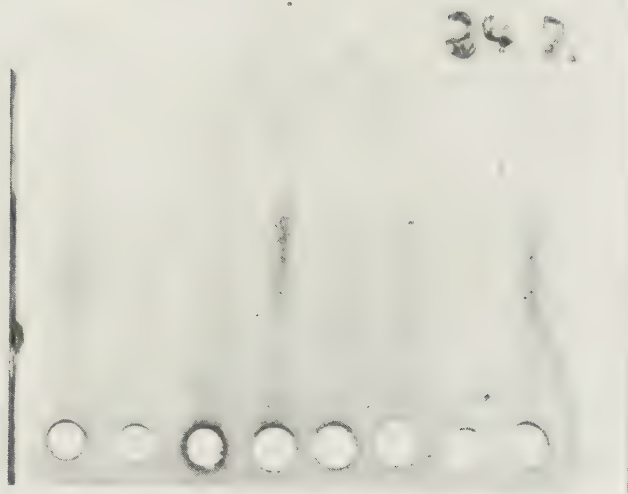
Immunelektrophorese
Photographie 12



- Proband 204
- Unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 2 %)

Immunelektrophorese

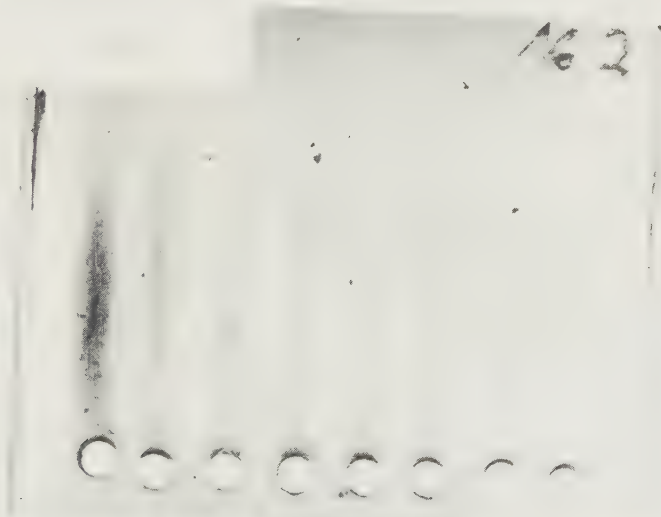
Photographie 13



- Proband 200
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Immunelektrophorese

Photographie 14



- Proband 207
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Cephazolinstudie

- Spezifische AAP-Färbung und unspezifische Proteinfärbung

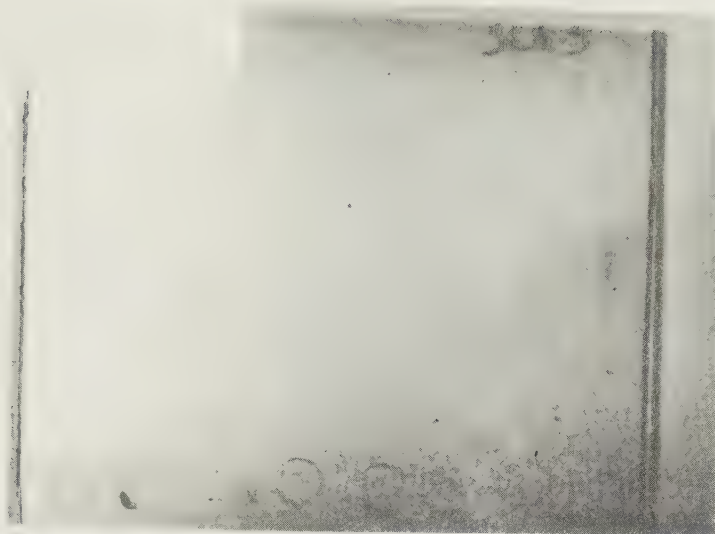
Der Nachweis der Alanin-Amino-Peptidase gelang in keinem Falle (211, 212, 219, 225, 226). Alle Plättchen blieben ohne Präzipitate. Eine erneute Elektrophorese der Harnkonzentrate bestätigte das Ergebnis. Auch die angeschlossene unspezifische Proteinfärbung konnte keine Banden sichtbar machen (Photographie 15 und 16). In diesem Versuch wurden auch die Harnkonzentrate der für die kinetische Bestimmung ausgefallenen Probanden 226 (siehe 4.1.1.1.) ausgetestet. Die Resultate entsprachen völlig den oben aufgeführten.

Cephalotinstudie

- Spezifische AAP-Färbung und unspezifische Proteinfärbung

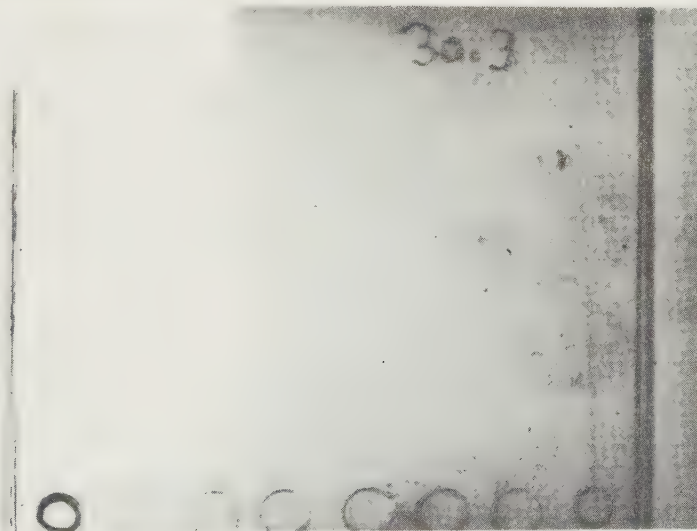
Ein der Cephazolinstudie analoges Resultat wurde erzielt. AAP-Aktivität vermochte sich nirgends zu manifestieren (217, 218, 220, 222, 223). Der Proteinnachweis verlief ebenfalls durchweg negativ (Photographie 17 und 18).

Immunelektrophorese
Photographie 15



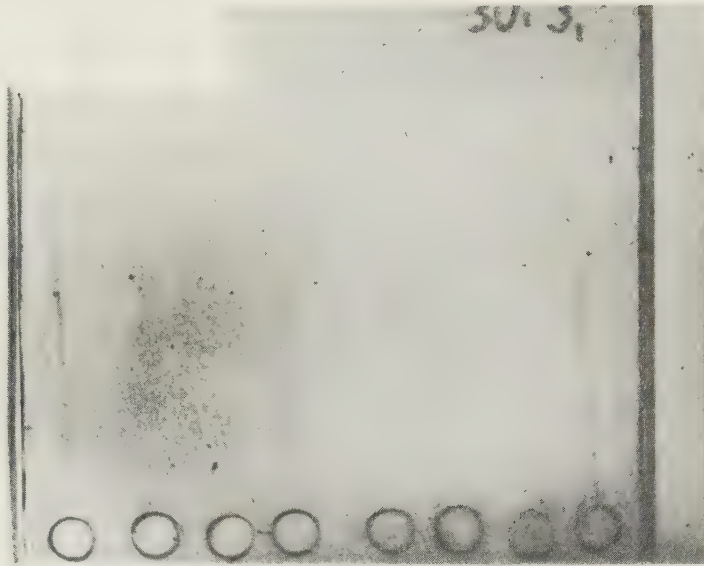
- Proband 211
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Immunelektrophorese
Photographie 16



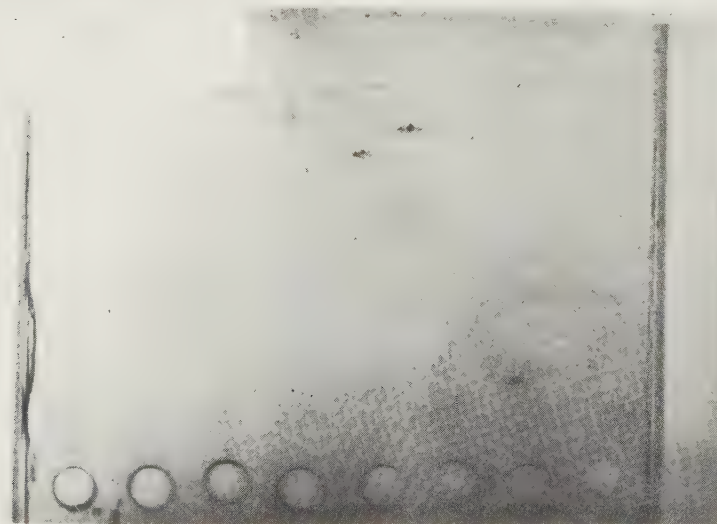
- Proband 219
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trärgel: 1 %)

Immunelektrophorese
Photographie 17



- Proband 217
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

Immunelektrophorese
Photographie 18



- Proband 222
- Spezifische AAP- und unspezifische Proteinfärbung
(Antiserumanteil im Trägergel: 1 %)

4.1.2.5. Vergleich der kinetisch-photometrischen mit den immunologischen Ergebnissen

- Cephacetrilstudie

Auf Grund ihrer kinetischen Ergebnisse wurden die Cephacetrilprobanden in Responder und Non-Responder eingeteilt, je nachdem, ob sie im Versuchsablauf mit erhöhter AAP-Elimination reagiert hatten oder nicht (siehe 4.1.2.1.1.). Die Photographien 1 bis 6 geben jene Fälle wieder, in denen AAP nach der Immunelektrophorese spezifisch angefärbt und so zur Darstellung gebracht werden konnte. Der Vergleich ergab, daß nur Personen aus der Respondergruppe auch immunologisch nachweisbar AAP im Urin ausschieden. Drei Responder (204, 206, 209) zeigten hingegen ein negatives Ergebnis in der Elektrophorese, bei ihnen gelang es also trotz erhöhter kinetischer AAP-Aktivität im Urin nicht, diese auch als Banden sichtbar zu machen. Eine Untersuchung der kinetischen und immunologischen Spitzenwerte bewies bei Nr. 201, 210 und 213 deutliche Übereinstimmung, wohingegen bei Proband 214 der immunologische Test den Höchstwert einen Tag früher als die kinetische Messung markierte. Umgekehrt vermochte bei Teilnehmer 208 die kinetische Betrachtung das Maximum bei Tag 2 zu lokalisieren, während in der Elektrophorese Tag 3 herausragte. Tag 3 als zweithöchster kinetischer Wert des Probanden 210 trat immunologisch nicht in Erscheinung (Abb. 25, 26, 27). Teilnehmer 216 schließlich zeigte als einziger Banden an den Tagen 1 bis 7; bezeichnenderweise waren die Leerwerttage O_1 und O_2 negativ.

Auf der anderen Seite korrelierten die Resultate beider Methoden in der Non-Respondergruppe total. Sowohl mit der kinetischen als auch mit der immunologischen Auswertung war kein AAP-Aktivitätsanstieg im 24 h-Urin feststellbar. Abb. 28 demonstriert das homogene Verhalten der Non-Respondergruppe.

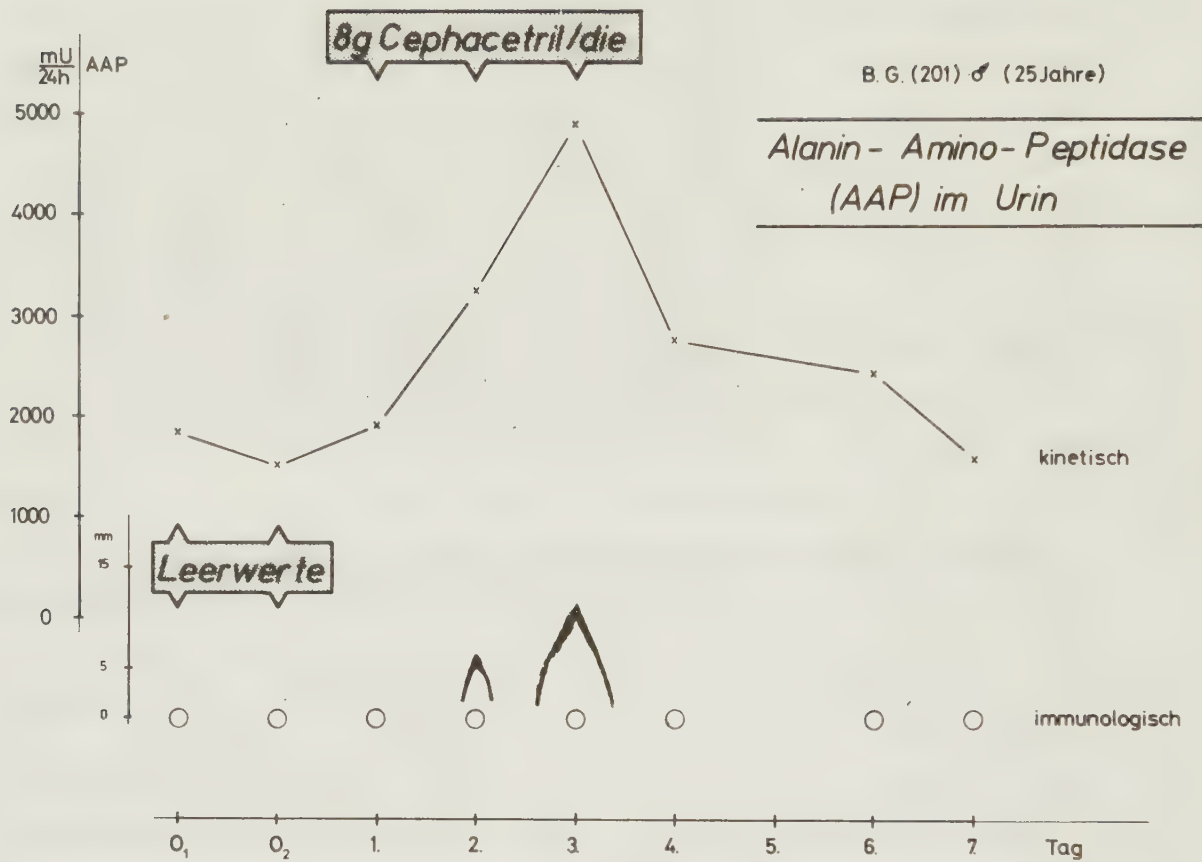


Abb. 25

- AAP im Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation (Proband 201)
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

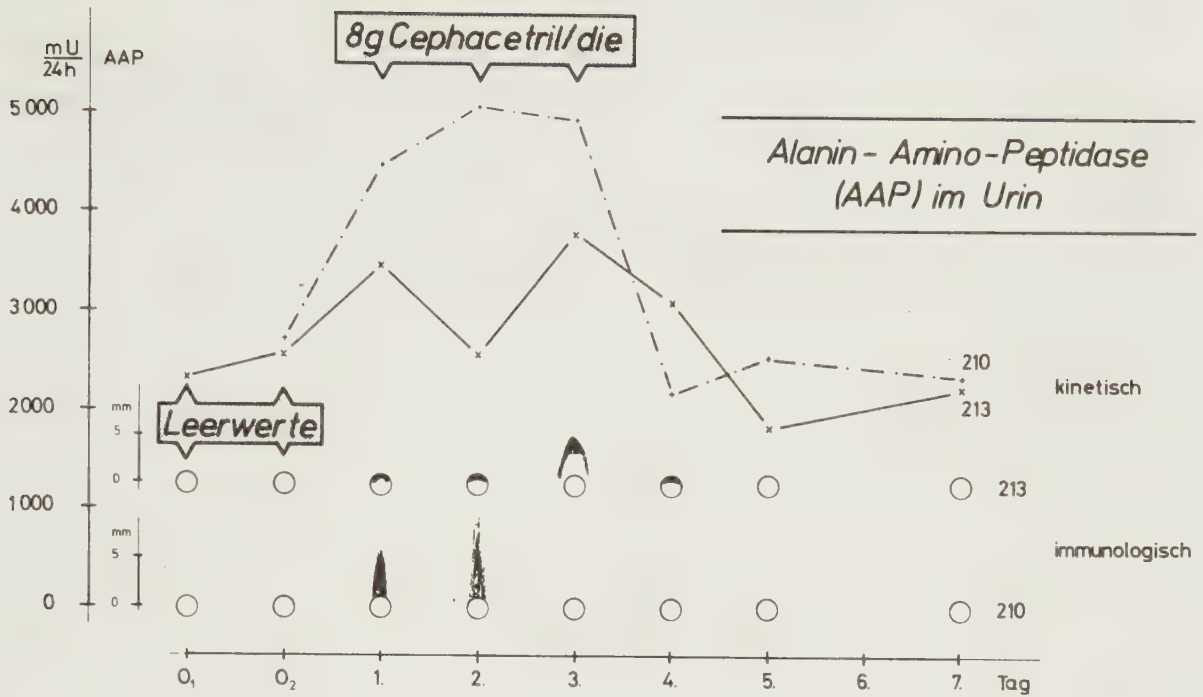


Abb. 26 - AAP im Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation (Probanden 210 und 213)

- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

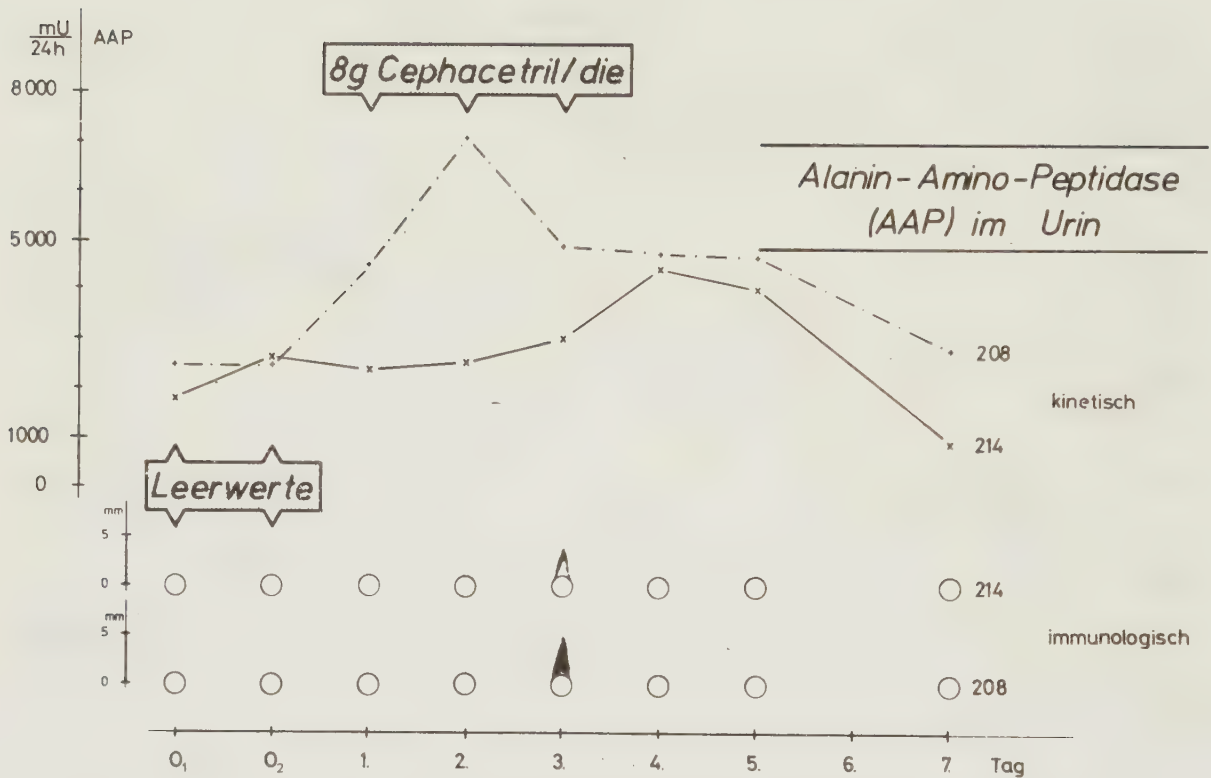


Abb. 27

- AAP im Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation (Probanden 208 und 214)
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

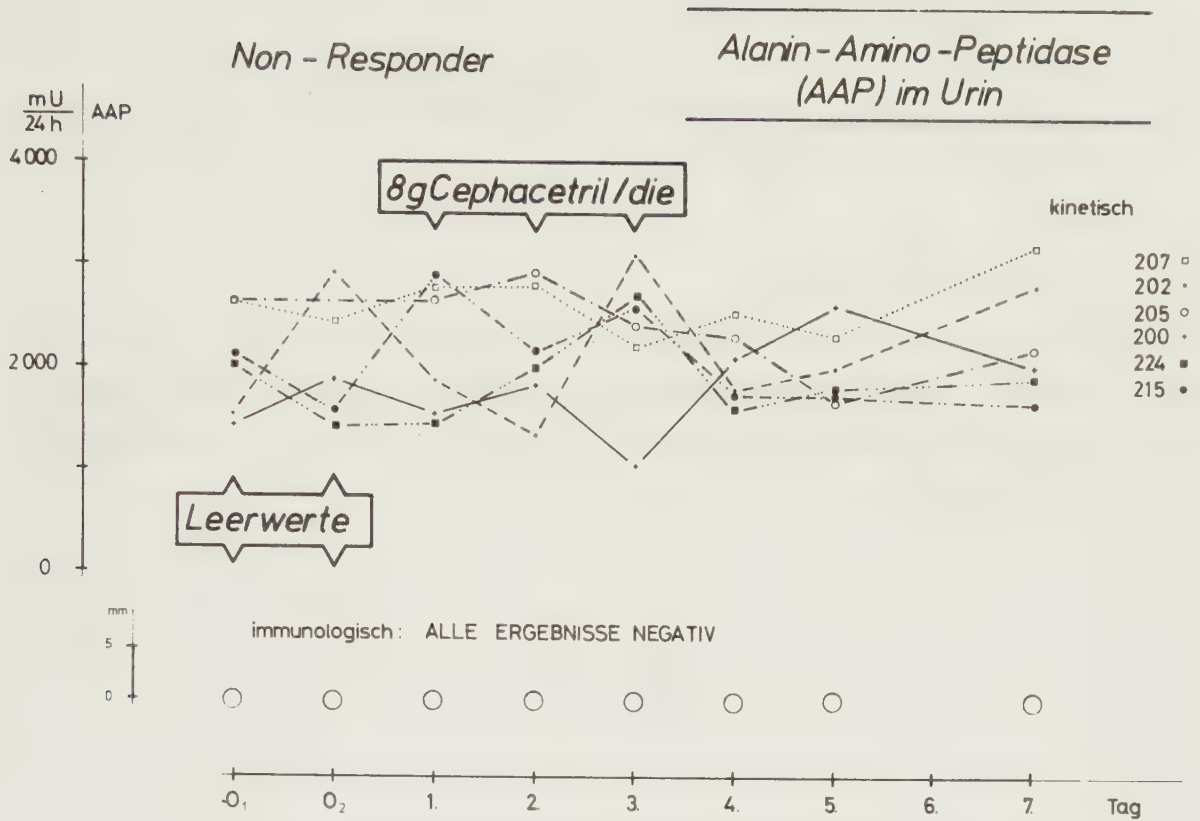


Abb. 28

- AAP im Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephacetrilapplikation (Non-Responder)
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

- Cephazolinstudie

Unter Zugrundelegung der Kriterien in 4.1.2.1.1. für die kinetische Messung wären alle Probanden als Non-Responder einzuordnen gewesen, d.h., sie reagierten nicht mit einer gesteigerten AAP-Ausscheidung im Urin. Die Immunelektrophorese verifiziert diese photometrischen Ergebnisse vollkommen, da sich nirgends Alanin-Amino-Peptidase spezifisch anfärben ließ (Abb. 29).

- Cephalotinstudie

AAP-Aktivitätssteigerungen im Sinne von 4.1.2.1.1. waren mit der kinetischen Messung nicht zu verzeichnen. Die durchweg negativen immunologischen Ergebnisse erhärteten diese Aussage (Abb. 30).

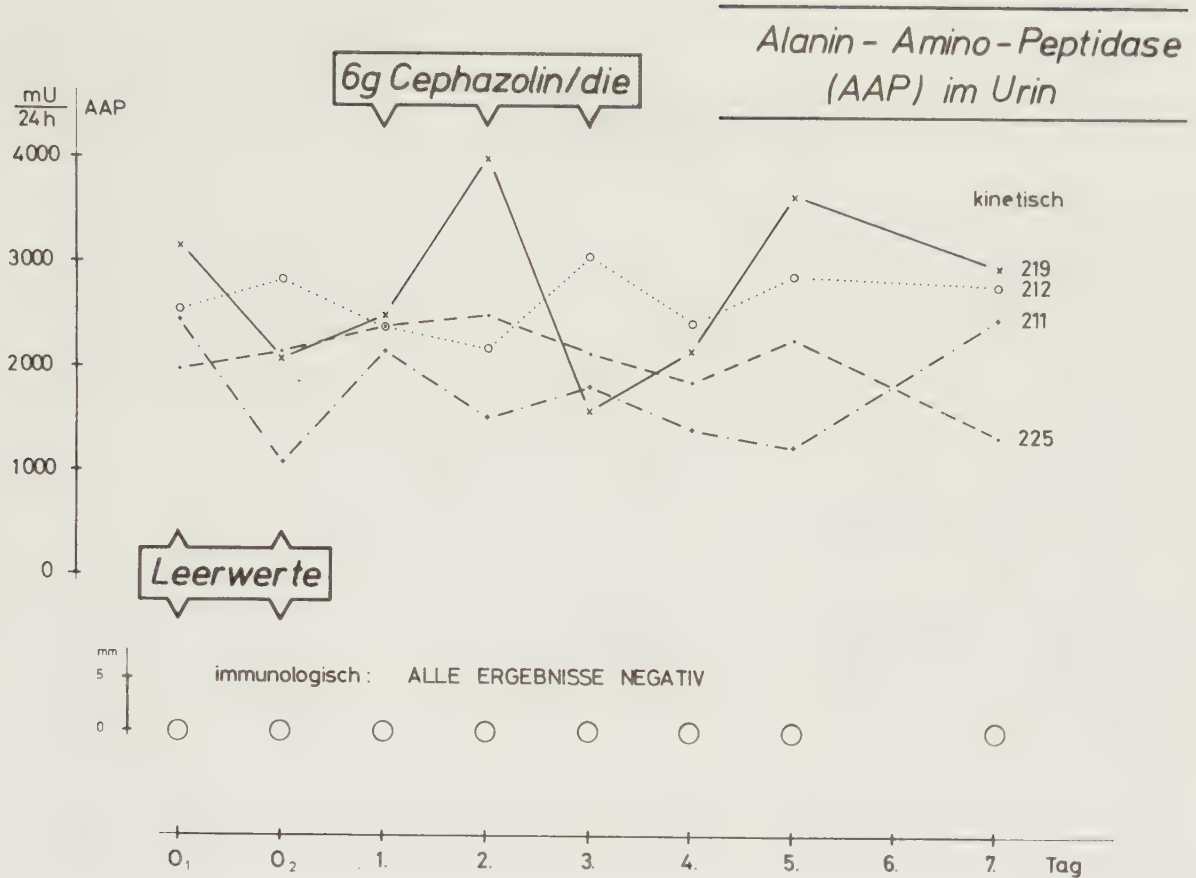


Abb. 29

- AAP im Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephazolinapplikation (Probanden 211, 212, 219 und 225)
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

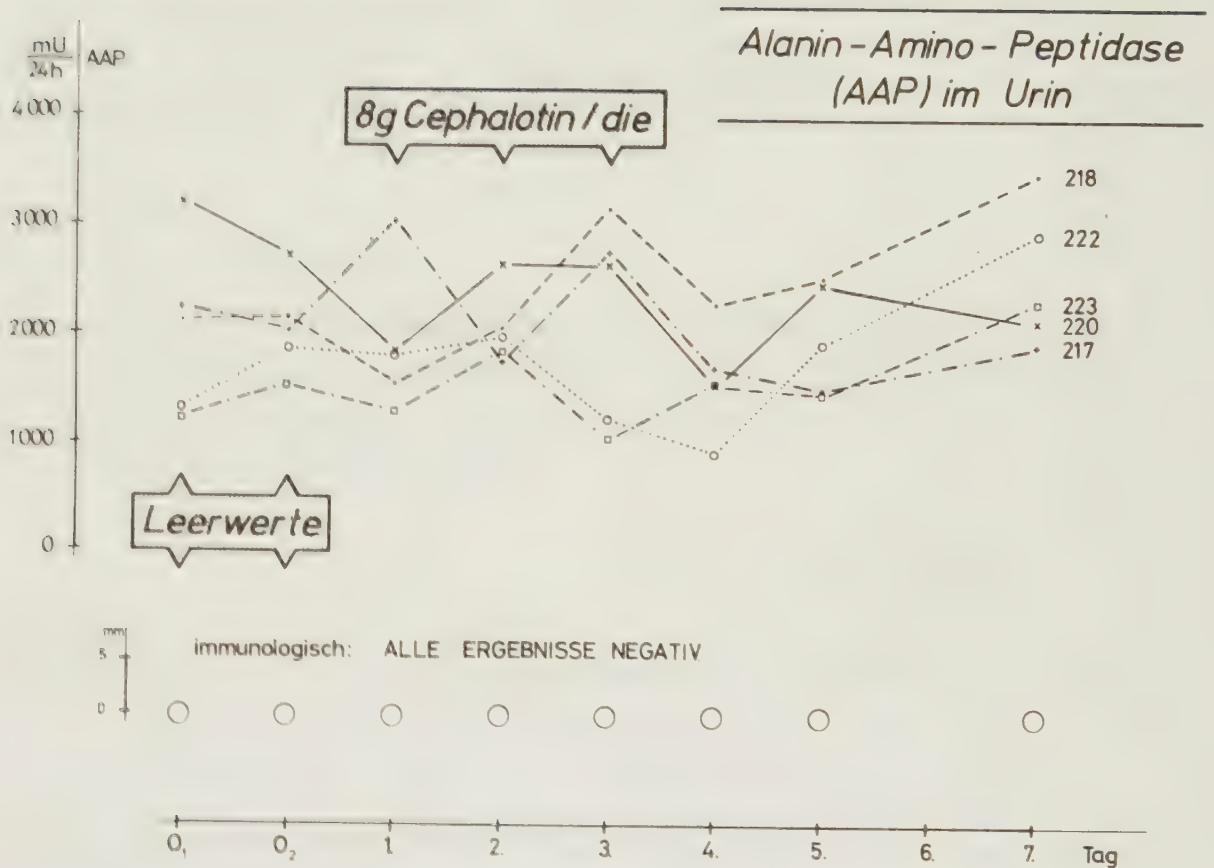


Abb. 30

- AAP im Urin vor, im Verlauf und nach dreimaliger Cephalotinapplikation (Probanden 217, 218, 220 und 223)
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

4.2. Tagesprofil der Enzymurie (AAP) Gegenüberstellung: Kontrollgruppe - Cephacetrilversuchsgruppe

4.2.1. Kontrollgruppe (kinetisch-photometrische Normalwerte)

4 Probanden waren in der Kontrollgruppe zusammengefaßt (Strukturelle Daten siehe Abb. 32).

Aus den 5 zweistündigen und der vierzehnstündigen Sammelperiode konnten 24 Urinportionen gewonnen werden. Das Ende des ersten Sammelintervalls markierte den zeitlichen Nullpunkt im Versuchsablauf (erste Ergebnisse). Der Sammelbeginn wäre also mit der Zeitmarke -2 zu charakterisieren gewesen. Der zeitliche Schlußpunkt wurde mit der Zahl 22 nach der letzten Sammelperiode (letzte Ergebnisse) genau 24 Stunden nach Sammelbeginn gesetzt. In der Auswertung zeigte Proband 02 nach der dritten Sammelperiode die höchste Enzymaktivität (2,08 mU/Min.). Die geringste wies Teilnehmer 04 nach der fünften auf (0,25 mU/Min.). Am Versuchszeitpunkt 0 (also nach dem ersten Zwei-Stunden-Intervall) wurde der höchste Mittelwert (1,09 mU/Min.) gefunden. Das Mittelwertminimum war nach der letzten zweistündigen Sammelperiode (Versuchszeitpunkt 8) mit 0,65 mU/Min. zu lokalisieren. Tab. 26 vereinigt in sich alle ermittelten Daten.

Das Histogramm mit angepaßter Gaußverteilung sämtlicher über 24 Stunden gewonnener Resultate wurde in Abb. 31 dargestellt. Mit dem Chi-Quadrat-Anpassungstest konnte die Nullhypothese, daß die Stichprobe einer Normalverteilung entnommen sei, nur zurückgewiesen werden ($2\alpha = 0,05$). Für $2\alpha = 0,05$ lag hierfür die Signifikanzgrenze bei Chi-Quadrat = 12,59. Die obigen Meßwerte genügten mit Chi-Quadrat 12,89 diesen Anforderungen denkbar knapp nicht (Tab. 27). Abb. 32 verdeutlicht das Verhalten der Mittelwerte über 24 Stunden. Die Einzelverläufe wurden in Abb. 33 wiedergegeben.

Proband Nr.	Enzymaktivität [mU/Min.] bei Stunde					
	0	2	4	6	8	22
01	0,7	0,36	0,42	0,58	0,53	0,53
02	1,73	1,6	2,08	1,46	1,26	1,08
03	1,06	0,88	0,72	1,09	0,57	0,65
04	0,88	1,2	0,86	0,58	0,25	0,66
n	4	4	4	4	4	4
$\bar{x}$	1,09	1,01	1,02	0,93	0,65	0,73
s	0,45	0,52	0,73	0,43	0,43	0,24
VK	41,3	51,5	71,6	46,2	66,2	32,9
Vol. $\bar{x}$	0,78	0,69	0,68	0,72	0,44	0,44

Tabelle 26 - AAP im Urin: Tagesprofile der Kontrollgruppe
n = Stichprobenumfang
 $\bar{x}$ = Mittelwert in mU/Min.
s = Standardabweichung
VK = Variationskoeffizient
Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/Min.

Intervall mU/Min.	Beobachtete absolute Häufigkeit	Theoretische Häufigkeit
0,00 - 0,25	0	1,2475
0,25 - 0,50	3	2,6818
0,50 - 0,75	9	4,3054
0,75 - 1,00	3	5,1621
1,00 - 1,25	4	4,6222
1,25 - 1,50	2	3,0909
1,50 - 1,75	2	1,5436
1,75 - 2,00	0	0,5757
2,00 - 2,25	1	0,1604

Tabelle 27 - AAP im Urin: Tagesprofil der Kontrollgruppe
- Vergleich der beobachteten mit den für eine Normalverteilung postulierten theoretischen Häufigkeiten
Chi-Quadrat = 12,8853
Anzahl der Freiheitsgrade = 6

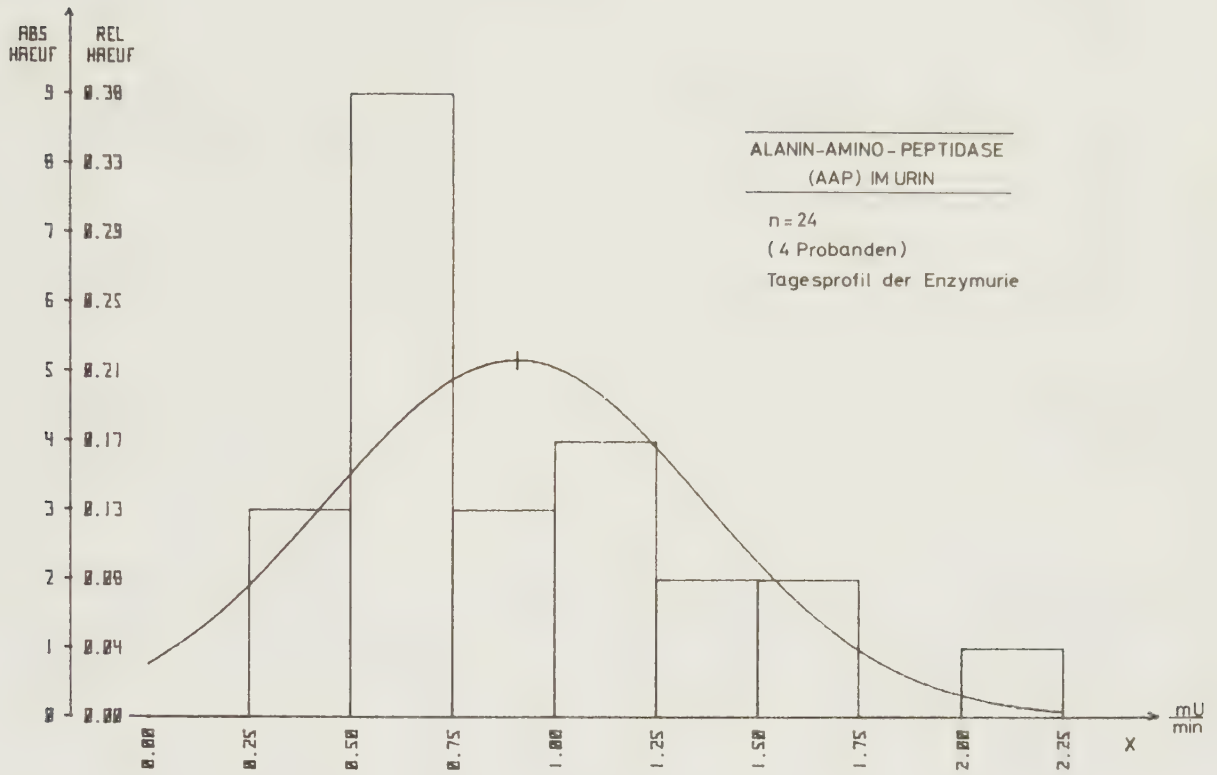


Abb. 31

- AAP im Urin: Histogramm zum Tagesprofil bei der Kontrollgruppe
- Absolute und relative Häufigkeiten
- Angepaßte Normalverteilung

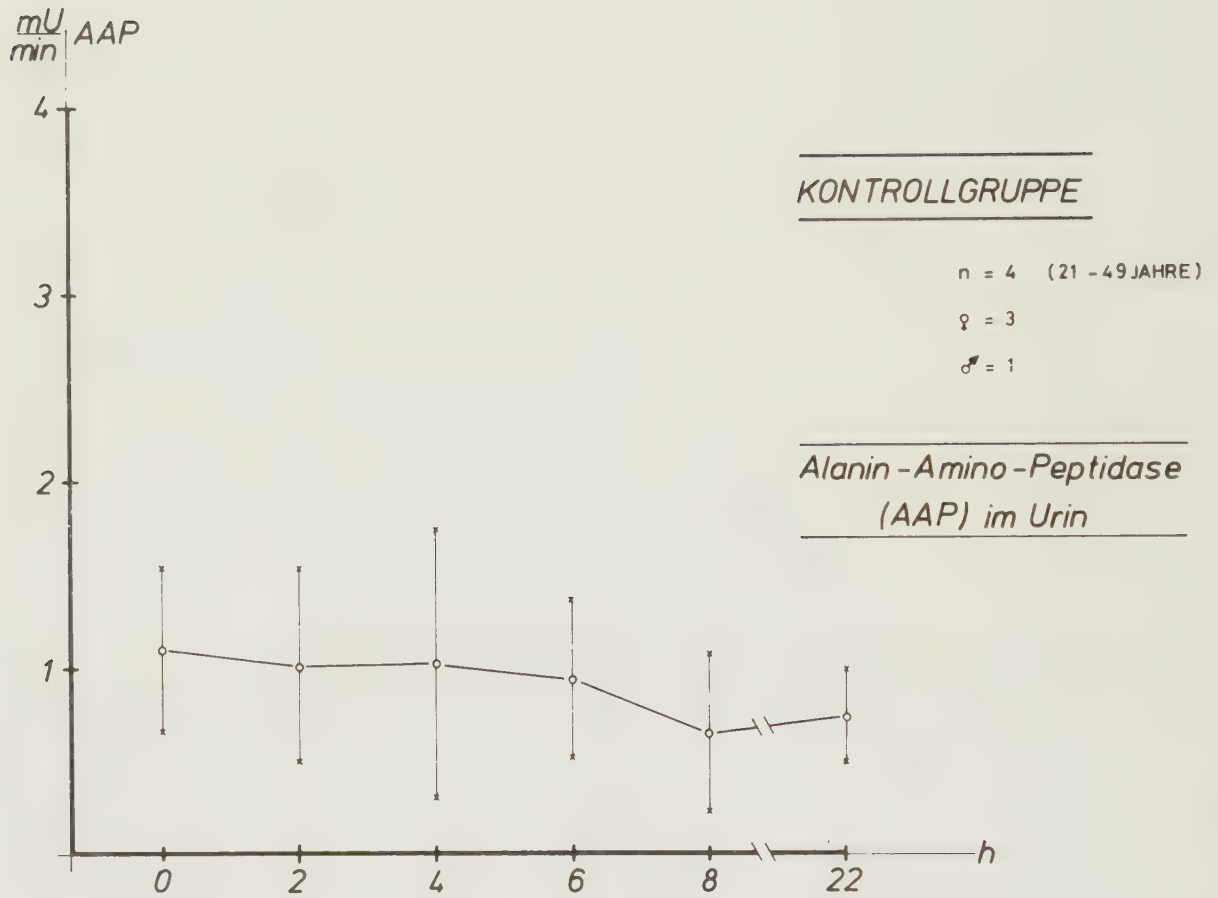


Abb. 32 - AAP im Urin: Tagesprofil der Kontrollgruppe
 - Mittelwerte von 4 Probanden
 - Standardabweichungen

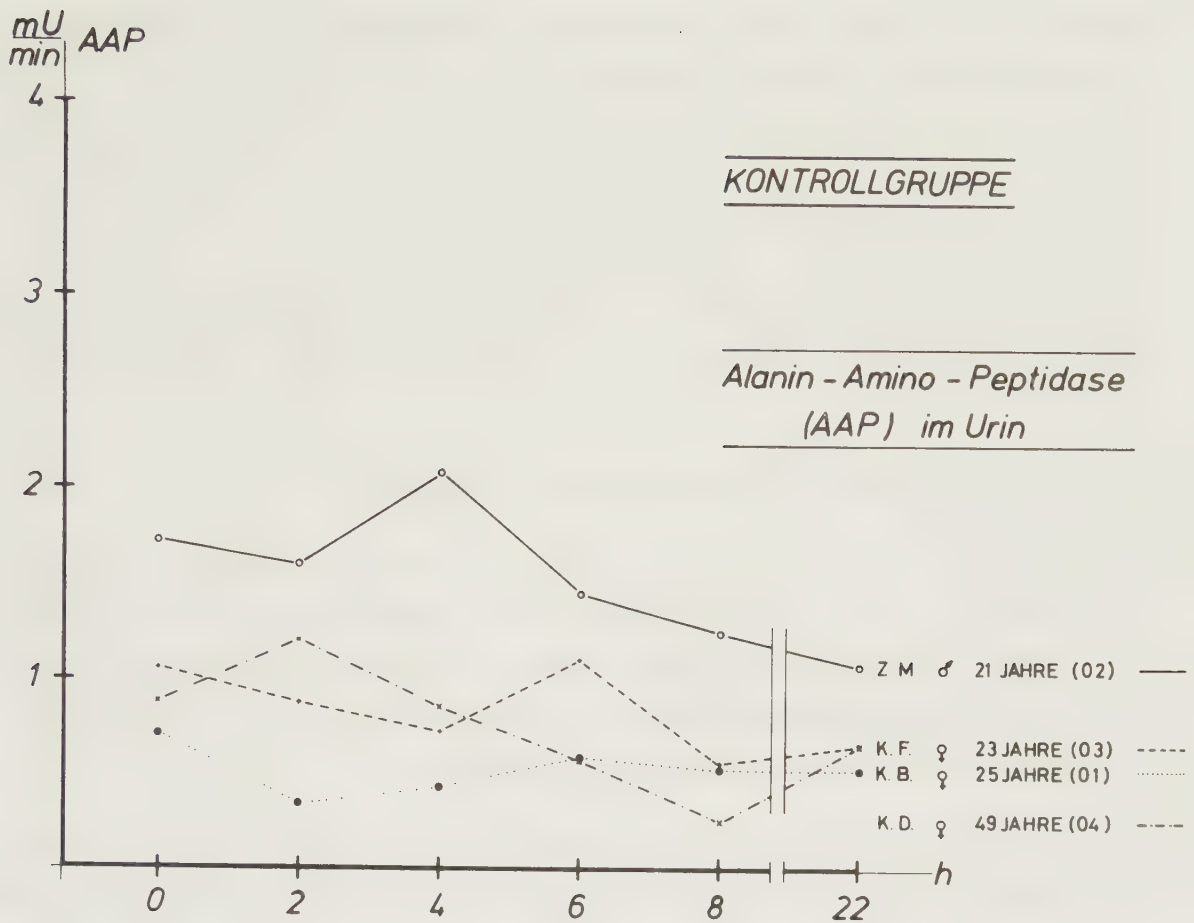


Abb. 33 - AAP im Urin: Tagesprofile der Kontrollgruppe (Einzelverläufe)

4.2.2. Cephacetrilversuchsgruppe

Bei diesem Experiment rekrutierte sich das Kollektiv aus 5 Probanden (strukturelle Daten siehe Abb. 34).

Methodisch wurde wie unter 4.2.1. beschrieben verfahren. Dieses Vorgehen wurde lediglich an drei Stellen modifiziert. Zum ersten erfolgte unmittelbar nach dem Versuchszeitpunkt 0 eine einmalige Cephacetrilinfusion. Zum zweiten wurde die Anzahl der zweistündigen Sammelperioden auf 6 erhöht und somit das folgende 14-stündige Intervall auf ein 12-stündiges verkürzt. Zum dritten wurden die Urine nicht verworfen, sondern einkonzentriert und immunologisch ausgewertet.

4.2.2.1. Kinetisch-photometrische Analyse

Auffallend war die Inhomogenität zwischen Proband 230 und den übrigen Teilnehmern. Seine AAP-Ausscheidung lag schon im vorhinein deutlich über allen anderen. Da sich dieses Ergebnis auch immunologisch bestätigte, wurde Serie 230 einer gesonderten Analyse unterzogen.

Bei der Betrachtung der Enzymaktivitäten der übrigen Versuchspersonen fiel auf, daß in 3 von 4 Fällen die höchsten Resultate in dem der Cephacetrilapplikation unmittelbar folgenden Intervall erhalten wurden (Maximum: 4,32 mU/Min., Nr. 224). Lediglich die Nr. 229 zeigte hier nur ihren zweithöchsten Wert. Die niedrigsten mU/Min. wurden bei der Nr. 229 nach der ersten Sammelperiode bei Versuchszeitpunkt 0 gemessen (0,35 mU/Min.). Es verwundert nunmehr nicht, daß auch das Maximum der Mittelwerte (2,96 mU/Min.) bei Versuchszeitpunkt 2 unmittelbar nach der Cephacetrilinfusion zu lokalisieren war. Das Mittelwertminimum war am Meßpunkt 0 nach der ersten Sammelperiode aufzufinden (Tab. 28).

Im Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben stellte sich signifikant ($2\alpha \leq 0,05$) der Aktivitätsanstieg nach Cephace-

trilinfusion gegenüber der Kontrollgruppe von Zeitmarke 0 bis Zeitmarke 2 heraus. Die Einzelverläufe wurden in Abb. 34 zusammengestellt, die Mittelwerte in Abb. 35. Den direkten Vergleich Kontrollgruppe - Cephacetrilversuchsgruppe ermöglicht Abb. 36 (Verlaufskurve des Probanden 230 siehe 4.2.2.3.).

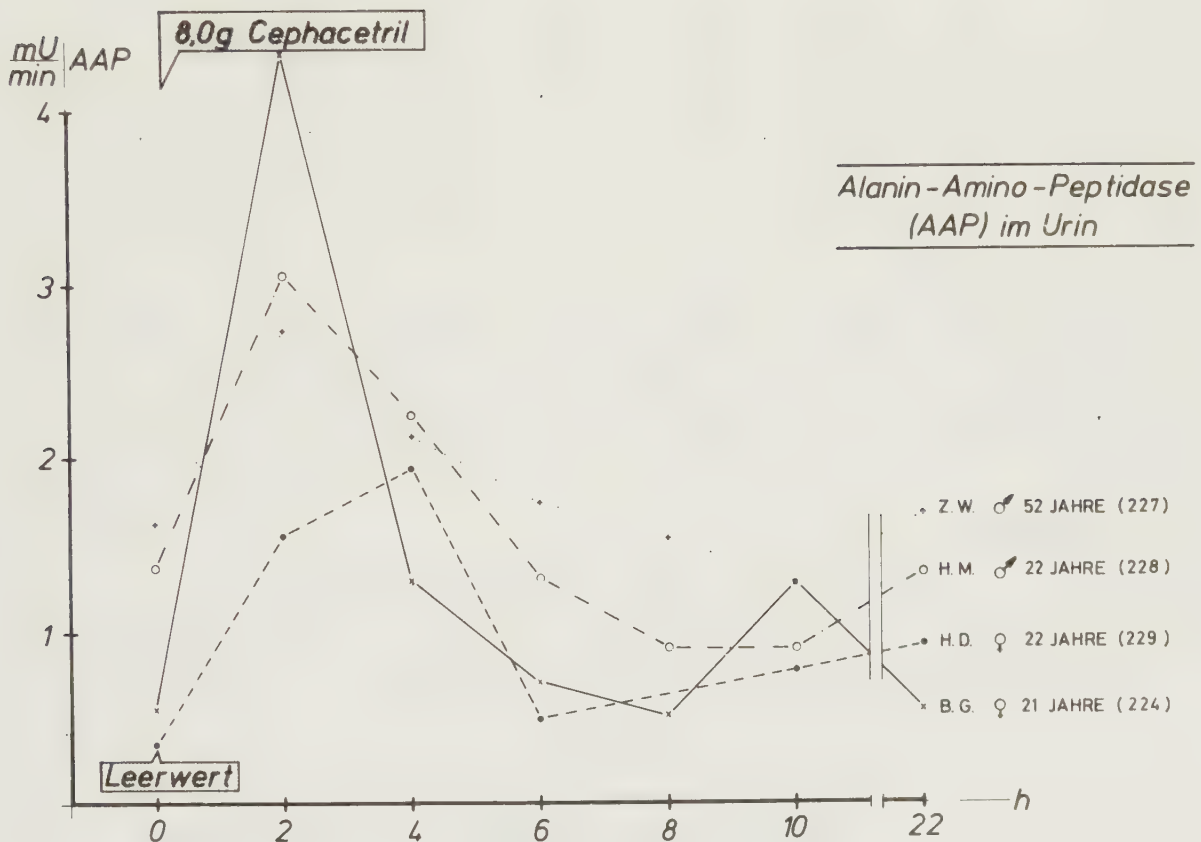


Abb. 34 - AAP im Urin, vor und nach einmaliger Cephacetrilapplikation:
Tagesprofile der Cephacetrilversuchsgruppe (Einzelverläufe)

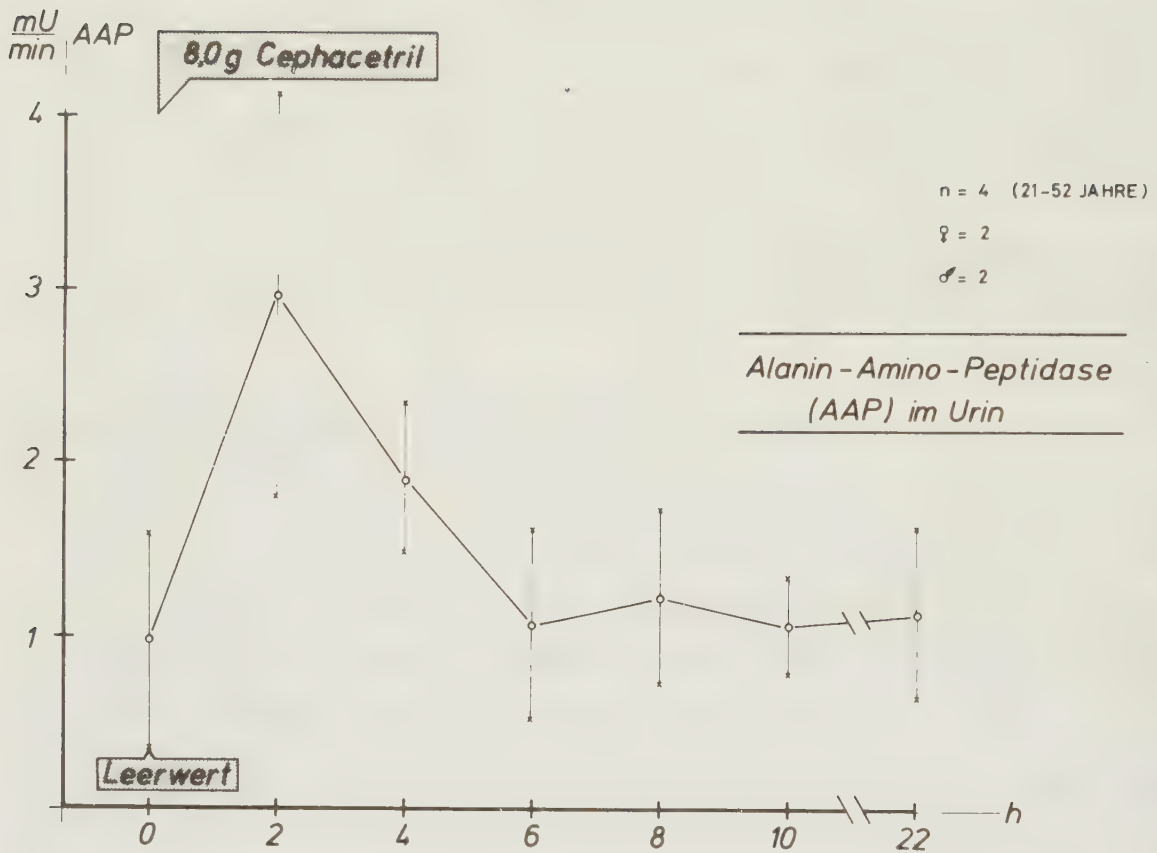


Abb. 35

- AAP im Urin vor und nach einmaliger Cephacetrilapplikation
- Mittelwerte von 4 Probanden (Tagesprofil)
- Standardabweichungen

Proband Nr.	8 g Cephacetril Enzymaktivität [mU/Min.] bei Stunde						
	0	2	4	6	8	10	22
224	0,54	4,32	1,29	0,71	0,52	1,28	0,55
227	1,62	2,73	2,12	1,72	1,54	1,30	1,69
228	1,38	3,23	2,25	1,31	0,91	0,89	1,35
229	0,35	1,55	1,94	0,51	1,52	0,78	0,94
n	4	4	4	4	4	4	4
$\bar{x}$	0,97	2,96	1,90	1,06	1,12	1,06	1,13
s	0,62	1,15	0,43	0,56	0,50	0,27	0,50
VK	63,9	38,9	22,6	52,8	44,6	25,5	44,2
Vol. $\bar{x}$	0,62	0,99	0,72	0,68	0,83	0,93	1,02
230	5,10	13,36	7,46	3,31	2,63	2,56	3,07
Vol. 230	1,33	1,92	3,08	1,03	1,00	1,04	1,49

Tabelle 28

- AAP im Urin vor und nach einmaliger Cephacetrilapplikation: Tagesprofile der Cephacetrilversuchsgruppe

n = Stichprobenumfang

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/Min.

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

Vol. $\bar{x}$ = Durchschnittsurinvolumen in ml/Min.

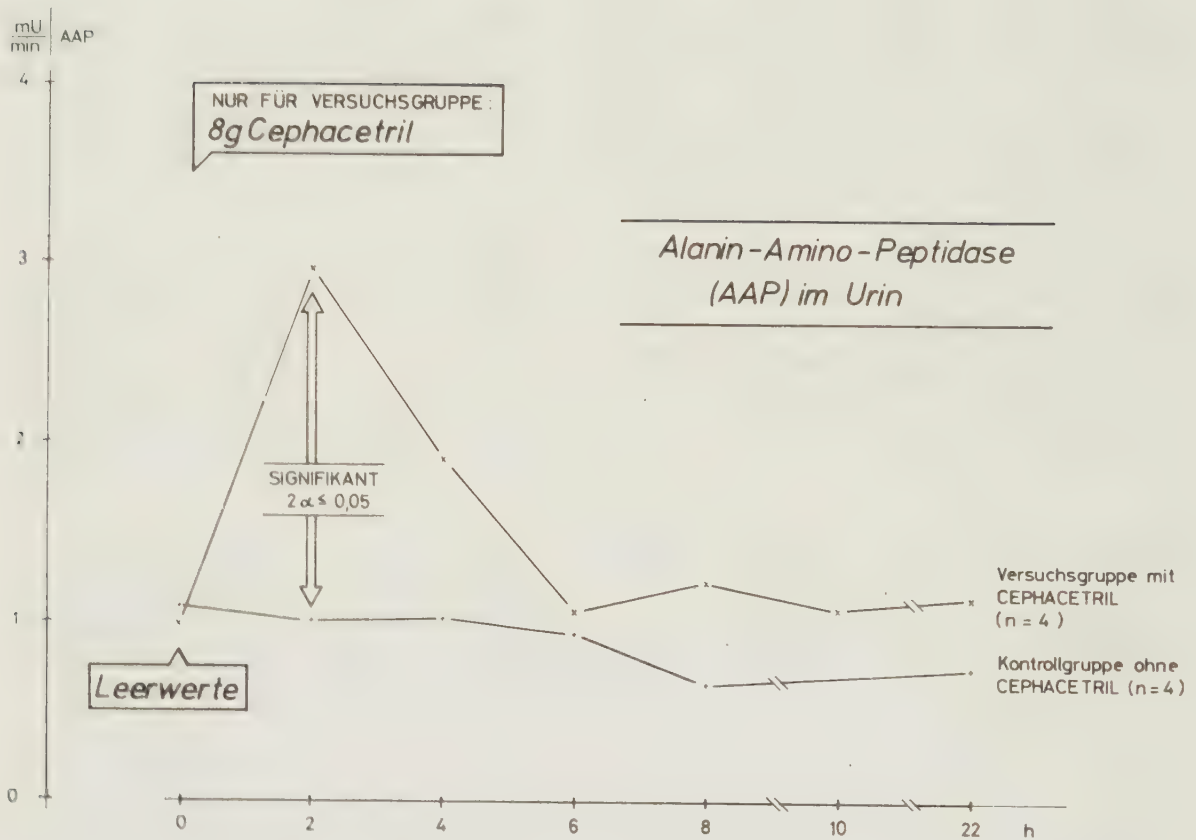


Abb. 36

- AAP im Urin: Vergleich Kontrollgruppe - Cephacetrilversuchsgruppe (Tagesprofile)
- Mittelwerte von je 4 Probanden

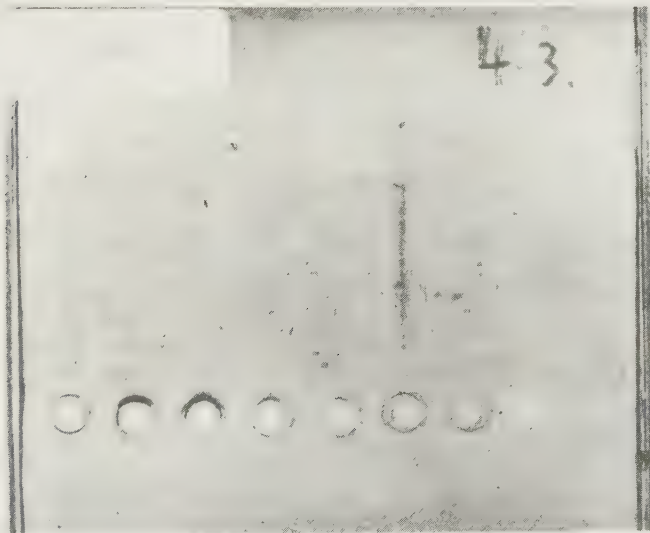
4.2.2.2. Immunologische Ergebnisse

Alle Immunelektrophoreseplättchen waren an ihrer Basis mit 8 Depotlöchern in linearer Anordnung versehen. Von links nach rechts wurden fortlaufend die Urinkonzentrate der zeitlich aufeinanderfolgenden Sammelintervalle eingebracht. Die 8. Ausstanzung am rechten Plättchenrand blieb unbefüllt. Auf der linken Seite (1. Reservoir) wurde also jeweils das Leerwertkonzentrat aus der Sammelperiode vor der Cephacetrilinfusion einpipettiert. Depot Nr. 2 enthielt dagegen den eingeengten Urin des direkt auf die Cephacetrilapplikation folgenden Sammelintervalls. Ausstanzung 3 wurde mit dem Harnkonzentrat der Sammeletappe 3 (Versuchszeitpunkt 4) beschickt, Depotloch 4 mit dem der 4. Sammelperiode (Versuchszeitpunkt 6) u.s.f.

Im folgenden wurden die Ergebnisse der spezifischen AAP-Färbung für jeden einzelnen Teilnehmer beschrieben sowie mittels Photographie dokumentiert.

Immunelektrophorese
Photographie 19

Proband 224



- Spezifische AAP-Färbung und unspezifische Proteinfärbung
1 % Antiserumanteil im Trärgel

Präzipitate waren nicht nachzuweisen. Lediglich die Ränder der Depots 2 und 3, worin sich die Urinkonzentrate aus den der Cephacetrilinfusion unmittelbar folgenden Sammelperioden befanden, zeigten eine spezifische Anfärbung.

Immunelektrophorese
Photographie 20

Proband 227



- Spezifische AAP-Färbung, 1 % Antiserumanteil im Trägergel

Es war keine AAP-Aktivität des Leerwertkonzentrates in Ausstanzung 1 erkennbar. Über Depot 2 (Intervall direkt nach Cephacetrilapplikation) imponierte ein deutlicher Peak mit einer Basisbreite und Höhe von 6 mm. Nur Depotrandfärbungen zeigten in abnehmender Intensität die Löcher 2, 3 und 4.

Immunelektrophorese
Photographie 21

Proband 228

- Spezifische AAP-Färbung, 1 % Antiserumanteil im Trärgel

Es bot sich ein fast analoges Bild zur Nr. 227. Ein deutliches Präzipitat (Basisbreite und Höhe 6 mm) über Ausstanzung 2 (Sammelperiode unmittelbar nach Cephacetrilinfusion) bewies eindrucksvoll eine starke AAP-Ausscheidung. Lochrandfärbungen, am geringsten in Depot 1, etwas intensiver in 3, 4 und 5, waren außerdem festzustellen.

Immunelektrophorese
Photographie 22

Proband 229



- Spezifische AAP-Färbung, 1 % Antiserumanteil im Trärgel

Die Harnkonzentrate bewirkten hier für jedes Sammelintervall eine direkt am Depotloch lokalisierte und dieses nach unten zu umgreifende Präzipitatlinie. Ausstanzung 1 trug außerdem einen etwas größeren linksschiefen Hof, der aber wahrscheinlich auf zum Rande hin übergelaufenes Konzentrat beruhte.

Immunelektrophorese
Photographie 23

Proband 230

- Spezifische AAP-Färbung, 1 % Antiserumanteil im Trägersgel

Die schon in 4.2.2.1. hervorgehobene Sonderstellung des Probanden 230 wurde durch die immunologische Auswertung deutlich gefestigt. Imponierte schon sein Leerwertkonzentrat (Depot 1) durch ein 22 mm hohes und an der Basis 7 mm breites Präzipitat kräftigster Farbe, so brachte das Harnkonzentrat der auf die Cephacetrilinfusion folgenden Sammelperiode (Depot 2) sogar ein Präzipitat von 25 mm Höhe und 9 mm Basisbreite hervor. Auffallend hierbei war ein eingeschlossener farblich abgesetzter kleinerer Peak in diesen beiden Höfen. Die Ausstanzungen 3, 4 und 5 trugen noch Präzipitate von 6 mm Höhe und 5 mm basaler Breite, wobei sich aber die beiden letztgenannten als farblich ungleich schwächer gegenüber dem Hof des Depot 3 erwiesen. Reservoir 7 zeigte schließlich einen direkt um seinen Rand verlaufenden Hof. (Ein 8. Depot fehlte hier!).

Generell konnte im Falle erfolgter spezifischer AAP-Anfärbung ein Umgreifen der Farbhöfe rund um die Depots festgestellt werden. Der Grund dafür war in der Technik der Befüllung zu suchen, da eine 2. Beschickung jeweils nach Diffusion der 1. Portion in das allseitig umgebende Gel vorgenommen wurde.

Die im Anschluß an die spezifische AAP-Färbung vorgenommene unspezifische Proteinfärbung mit Coomassie Brilliantblau konnte in keinem Falle deutliche zusätzliche Präzipitate zur Darstellung bringen.

4.2.2.3. Vergleich der kinetisch-photometrischen mit den immunologischen Daten

In drei der fünf untersuchten Fälle war eine frappante Übereinstimmung der kinetisch-photometrischen mit den immunologischen Daten festzustellen (227, 228, 230). Die höchsten Aktivitäten wurden mit beiden Techniken für das 2. Sammelintervall und damit für die der Cephacetrilinfusion direkt folgenden 2 Stunden nachgewiesen. Nur eine undeutliche Verknüpfung beider Auswertungsmethoden ergab sich für die Nr. 224. Lediglich die Randanfärbung des Depot 2 legte hier Zeugnis von vermehrter AAP-Ausscheidung ab.

Die Proben der Nr. 229 schließlich zeigten immunologisch ein recht gleichförmiges Bild, läßt man einmal den wahrscheinlichen Artefakt über Reservoir 1 beiseite. Die kinetisch-photometrischen Daten ließen sich hier in ihrem Verlauf nicht nachvollziehen. Allerdings zeigte diese Serie bereits im Photometer die geringste AAP-Aktivität aller 5 Probanden, lag sie doch mit ihrem Maximum bei 1,94 mU/Min. und damit nur geringfügig über dem höchsten Leerwert (1,62 mU/Min., ausgenommen Nr. 230), der sich ja elektrophoretisch nicht darstellte. In Abb. 37 wurden kinetische und immunologische Ergebnisse des Probanden 230 vergleichend aufgetragen. Abb. 38 demonstriert das gleiche für die Nr. 227 und 228.

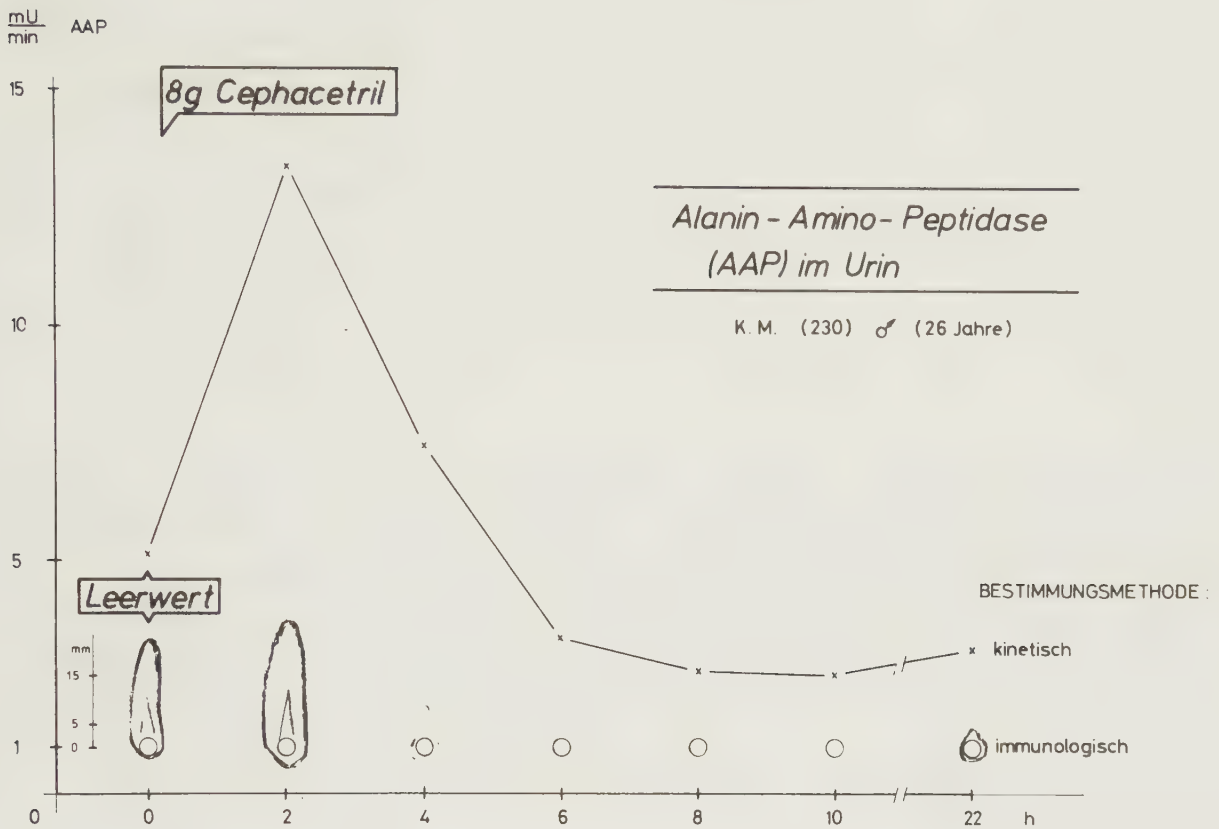


Abb. 37

- AAP im Urin vor und nach einmaliger Cephacetrilapplikation: Tagesprofil des Probanden 230
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

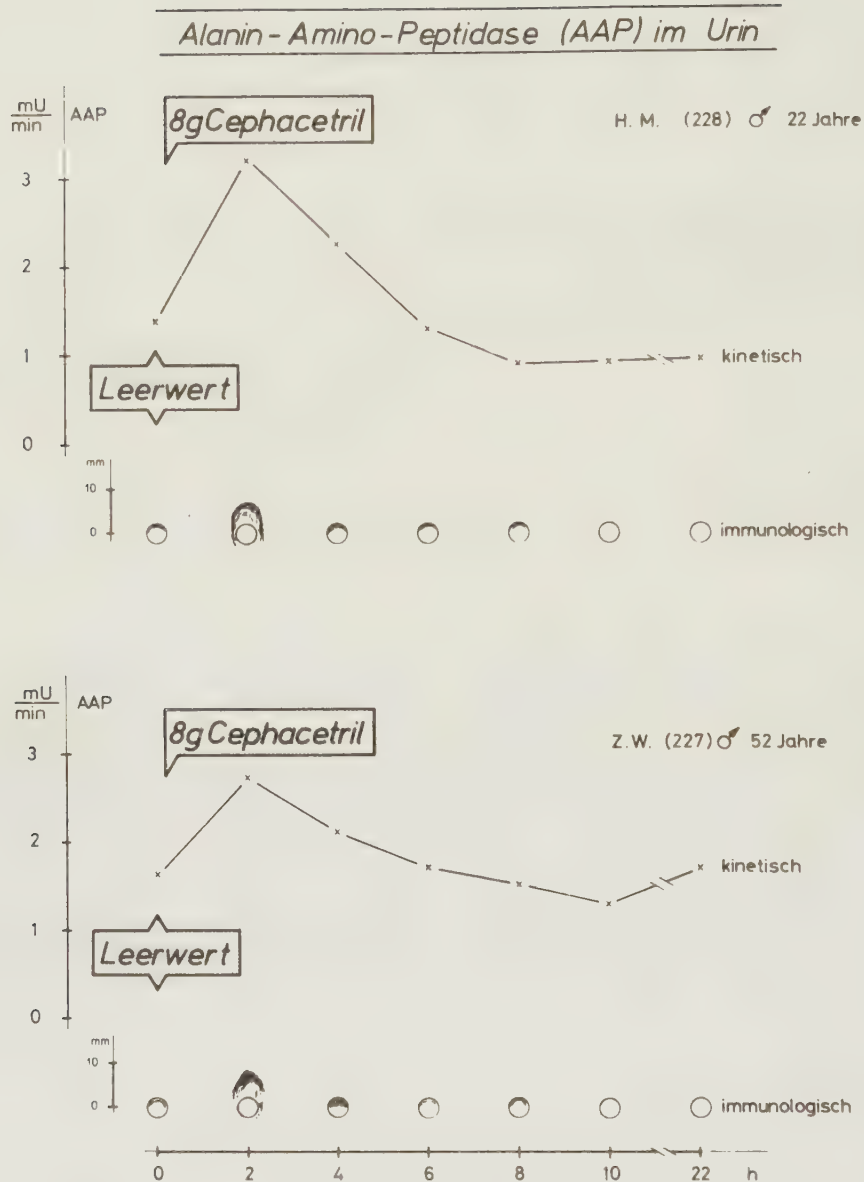


Abb. 38 - AAP im Urin vor und nach einmaliger Cephacetrilapplikation:
Tagesprofile der Probanden 227 und 228
- Kinetische und immunologische Ergebnisse im Vergleich

4.3. Experimentelle Untersuchung der Beeinflußbarkeit der Enzymaktivität durch die Antibiotika in vitro

4.3.1. Auswirkungen auf die kinetische Bestimmung

Um festzustellen, inwieweit Antibiotika direkt eine Änderung der Enzymaktivität herbeizuführen vermögen, wurden Nativurinproben eines 24 h-Urins (Vol. = 1320 ml) vor und nach Cephacetril-, Cephazolin- oder Cephalotinbeigabe auf ihre enzymatische Aktivität im Photometer geprüft (siehe auch 3.4.1.). Dabei wurden in je 6,6 ml des Nativharns (= 1/200 des Gesamtvolumens) 0,04 g Cephacetril bzw. 0,03 g Cephazolin bzw. 0,04 g Cephalotin eingewogen. Tab. 29 informiert über die Ergebnisse.

Eine Berechnung der jeweiligen größten Abweichung bei Cephalosporinzusatz von der Aktivität des reinen Nativharns ergab bei der AAP 2,5 %, bei der AP 6,4 % und schließlich bei der gamma-GT 5,3 %. Diese Resultate lagen mithin alle innerhalb der für die Wertung von Doppelbestimmungen selbst gewählten 10 %-Grenze (Differenz 1. Messung - 2. Messung in % des kleineren Meßwerts) und machten so eine Beeinflussung der Enzymaktivitäten durch die untersuchten Antibiotika unwahrscheinlich.

4.3.2. Auswirkungen auf die immunologische Bestimmung

- a) In der Elektroimmundiffusion mit nachfolgender spezifischer AAP-Färbung vermochte das Urinkonzentrat 209, Leerwerttag O_2 , auch nach Cephalosporinzusatz keine Farbreaktion hervorzurufen. Hierdurch konnte eine direkte Wechselwirkung zwischen den Antibiotika und dem Nachweismedium ausgeschlossen werden, da die hier eingesetzte Pharmakamenge durchaus höher lag als die in vivo zu erwartende. Die einwandfreie Funktion der Elektrophoreseanordnung wurde anhand der AAP-Bande des mitgeführten Standards bewiesen.

	A A P		A P		gamma-GT	
	Probevolumen	Aktivität [mU/ml]	Probevolumen	Aktivität [mU/ml]	Probevolumen	Aktivität [mU/ml]
Nativharn	0,4	2,40	0,1	5,28	0,4	26,29
Nativharn u. Cephacetril	0,4	2,46	0,1	5,29	0,4	26,14
Nativharn u. Cephazolin	0,4	2,37	0,1	5,49	0,4	25,03
Nativharn u. Cephalotin	0,4	2,35	0,1	4,94	0,4	24,89

Tabelle 29

- Enzymaktivität im Nativharn mit und ohne Antibiotikaeinwaage (Mittelwerte aus Fünffachbestimmungen)
- Probevolumen = eingesetzte Harnmenge im Reaktionsansatz in ml

Immunelektrophorese

Photographie 24



- Spezifische AAP-Färbung, 1 % Antiserumanteil im Trärgel
 - Über den Depots 1-4 (Harnkonzentrat ohne, dann mit Cephacetril-, Cephazolin- bzw. Cephalotineinwaage) keine Präzipitate
 - Über Depot 5 (AAP-Standard) ein deutlicher Peak
- b) Der Zusatz von Cephacetril- bzw. Cephazolin- bzw. Cephalotinlösung zu einem AAP-Standard (Photographie 25, Depots 1-3) unterschied sich in der Immunelektrophorese nicht von einer entsprechenden Mischung aus Aqua dest. und nämlichem Standard (Depot 4). Der spezifische Alanin-Amino-Peptidase-Nachweis erbrachte 4 absolut gleichgroße Peaks; eine Beeinflussung der immunologischen Reaktionen durch die untersuchten Antibiotika fand nicht statt.

Immunelektrophorese

Photographie 25



- Spezifische AAP-Färbung, 5 % Antiserumanteil im Trägergel
- Depot 1: Cephacetrillösung plus AAP-Standard
- Depot 2: Cephalotinlösung plus AAP-Standard
- Depot 3: Cephazolinlösung plus AAP-Standard
- Depot 4: Aqua bidest. plus AAP-Standard

4.4. Diurese und Enzymurie

4.4.1. Diurese und Enzymurie: Versuch zur Abhängigkeit der AAP-Ausscheidung vom Urinvolumen

Wie schon unter 3.4.2. beschrieben, wurde über 24 Stunden der Urin eines gesunden männlichen Probanden (Z.M., 22 J.) mit normaler Nierenfunktion fortlaufend in einer Zweistundenportion, sechs Einstundenportionen und schließlich einer Sechsstundenportion gesammelt. Dabei erfolgte nach dem anfänglichen Zweistundenintervall mit Flüssigkeitsabstinenz eine orale Wasserbelastung mit 2 Litern in 30 Minuten. Das Versuchsergebnis wurde in Tab. 30 festgehalten.

Zeitintervall	Urinvolumen [ml/h]	AAP [mU/ml]	AAP [mU/Min.]
0. - 2. Stunde	50	1,52	1,27
2. - 3. "	510	0,60	5,10
3. - 4. "	880	0,33	4,84
4. - 5. "	685	0,32	3,65
5. - 6. "	69	1,34	1,54
6. - 7. "	50	1,56	1,30
7. - 8. "	33	2,34	1,29
8. -24. "	33	2,28	1,23

Tabelle 30 - AAP im Urin vor und nach oraler Wasserbelastung
- Flüssigkeitsstoß in den ersten 30 Minuten des 2. Zeitintervalls (Z.M., 22 J.)

Aus Tab. 30 geht deutlich hervor, daß bei forcierter Diurese die Enzymaktivität/ml absank, gleichzeitig jedoch die gesamtvolumenbezogene Aktivität in mU/Min. anstieg (vergleiche Formeln unter 3.3.3.). Umgekehrt war bei geringer Ausscheidungsleistung der Niere eine Zunahme der Aktivität/ml bei verminderter Aktivität/Min. festzustellen. Hervorhebenswert erscheinen die nahezu gleichen Enzymeliminationen für gleiche Urinvolumina zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Versuchstages. (Zum Vergleich siehe Tab. 30: Intervalle 0. - 2. Stunde und 6. - 7. Stunde bzw. Intervalle 7. - 8. Stunde und 8. - 24. Stunde). In Abb. 39 wurden die AAP-Aktivitäten sowohl in mU/Min. als auch in mU/ml in Beziehung zum Urinvolumen aufgetragen.

Abb. 40 demonstriert die entsprechenden Regressionsgeraden und die empirischen Korrelationskoeffizienten für das statistische Modell einer linearen Abhängigkeit.

Folgende Geradengleichungen wurden errechnet:

- 1) Aktivität [mU/Min.] = $K_1 \times \text{Urinvolumen [ml/h]} + K_2$
wobei $K_1 = 0,0045$ und $K_2 = 1,2281$
- 2) Aktivität [mU/ml] = $K_3 \times \text{Urinvolumen [ml/h]} + K_4$
wobei $K_3 = -0,0020$ und $K_4 = 1,8637$

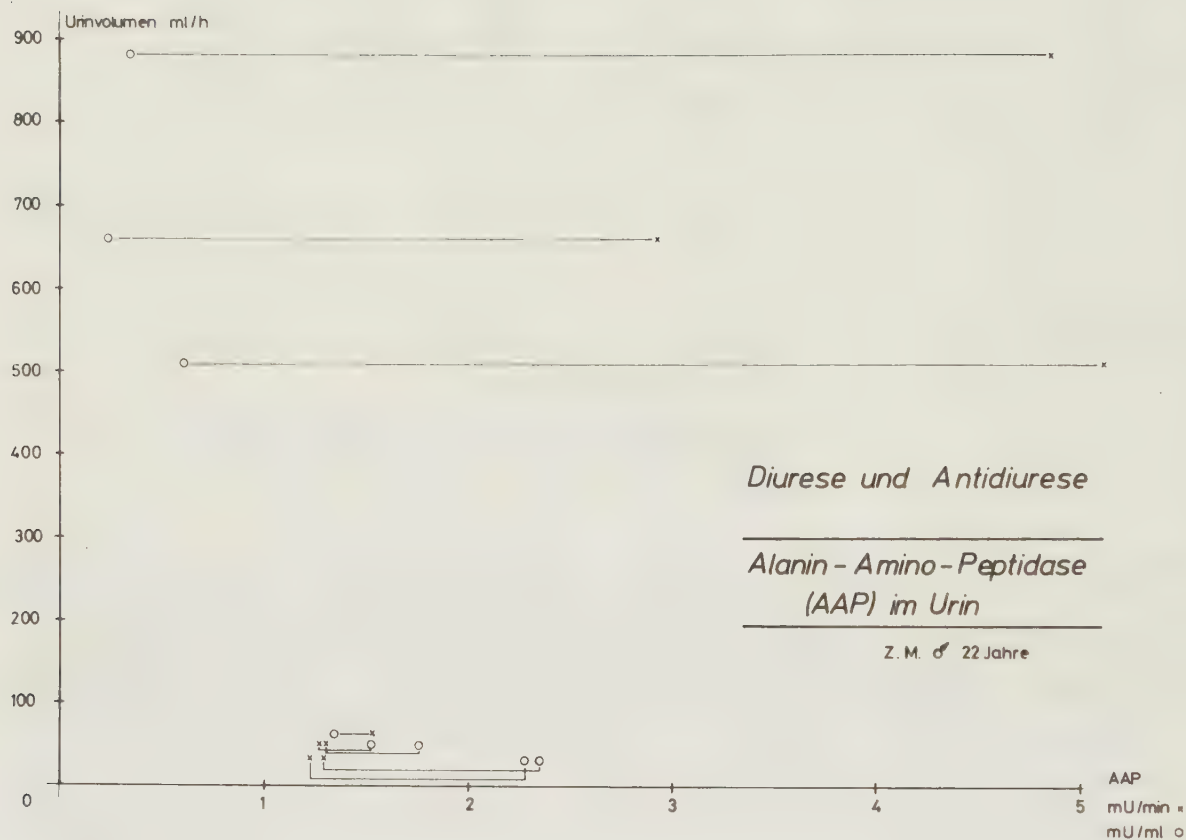


Abb. 39

- AAP im Urin:
Wasserbelastungsversuch
(Proband Z.M.)
- Korrespondierende Aktivitäten in
mU/Min. und mU/ml verbunden

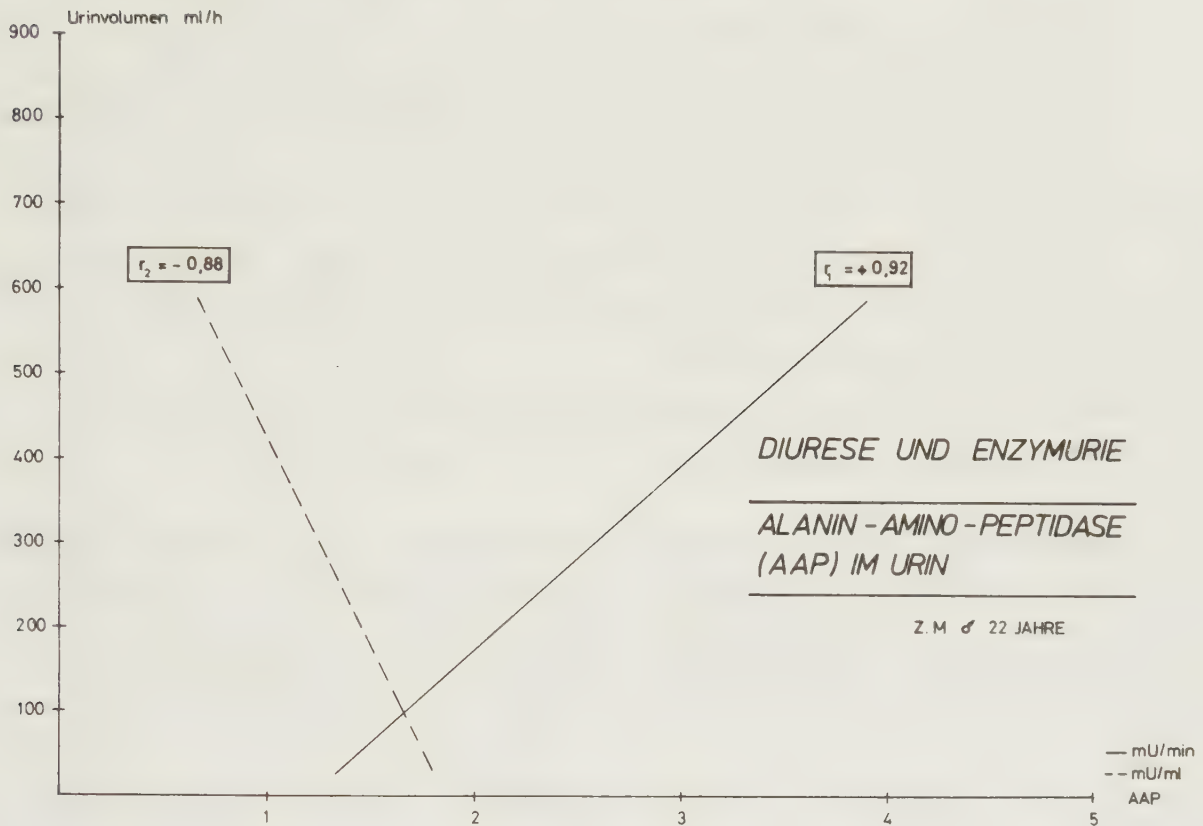


Abb. 40

- AAP im Urin:
Wasserbelastungsversuch
- Regressionsgeraden
- Empirische Korrelationskoeffizienten
(r_1 und r_2)

Vermag der Wasserbelastungsversuch auch evident die Abhängigkeit der AAP-Aktivität von der Diureseleistung darzustellen, so handelt es sich dabei doch um eine unphysiologische Situation, da extreme Urinvolumina/h erreicht werden. Abb. 41 läßt vermuten, daß eine lineare Beziehung mit definierten Konstanten für Diurese und Enzymurie nur in gewissen Grenzen Gültigkeit besitzt. Für Urinvolumina außerhalb dieser Grenzen sind neue Berechnungen der Konstanten erforderlich. Gerade die Resultate bei den frappant hohen Urinvolumina wie 510 ml/h, 880 ml/h und 685 ml/h wurden aus diesem Grund in getrennten Regressions- bzw. Korrelationsrechnungen den Ergebnissen bei physiologischen Urinvolumina gegenübergestellt.

Abb. 42 zeigt beide Regressionsgeraden für die AAP-Aktivität/ml in Abhängigkeit von der Diurese.

Für die gesamtvolumenbezogene Aktivität in ml/Min. ergibt sich ebenfalls ein sehr hoher empirischer Korrelationskoeffizient (0,86), wenn nur die Wertepaare für Urinvolumina zwischen 33 ml/h und 69 ml/h eingesetzt werden.

4.4.2. Diurese und Enzymurie: Korrelations- und Regressionsrechnungen mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe sowie den Leerwerttagen O_1 und O_2

In Abb. 43 wurden sämtliche AAP-Aktivitäten/Min. der Kontrollgruppe (siehe 4.2.1.) in Abhängigkeit von den Urinvolumina aufgetragen. Die dazugehörige Geradengleichung lautet:

$$\text{AAP-Aktivität [mU/Min.]} = 1,4674 \times \text{Urinvol. [ml/Min.]} - 0,0535$$

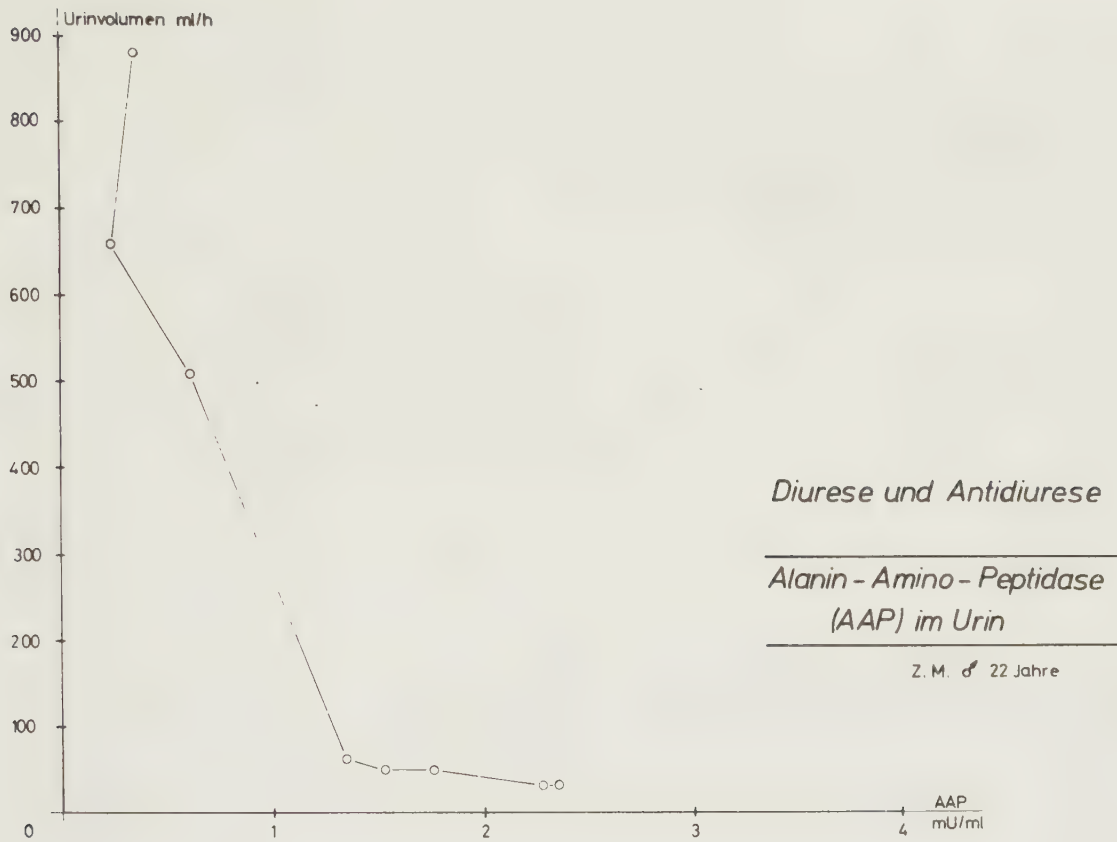


Abb. 41 - AAP im Urin:
Wasserbelastungsversuch
- Enzymaktivitäten in mU/ml

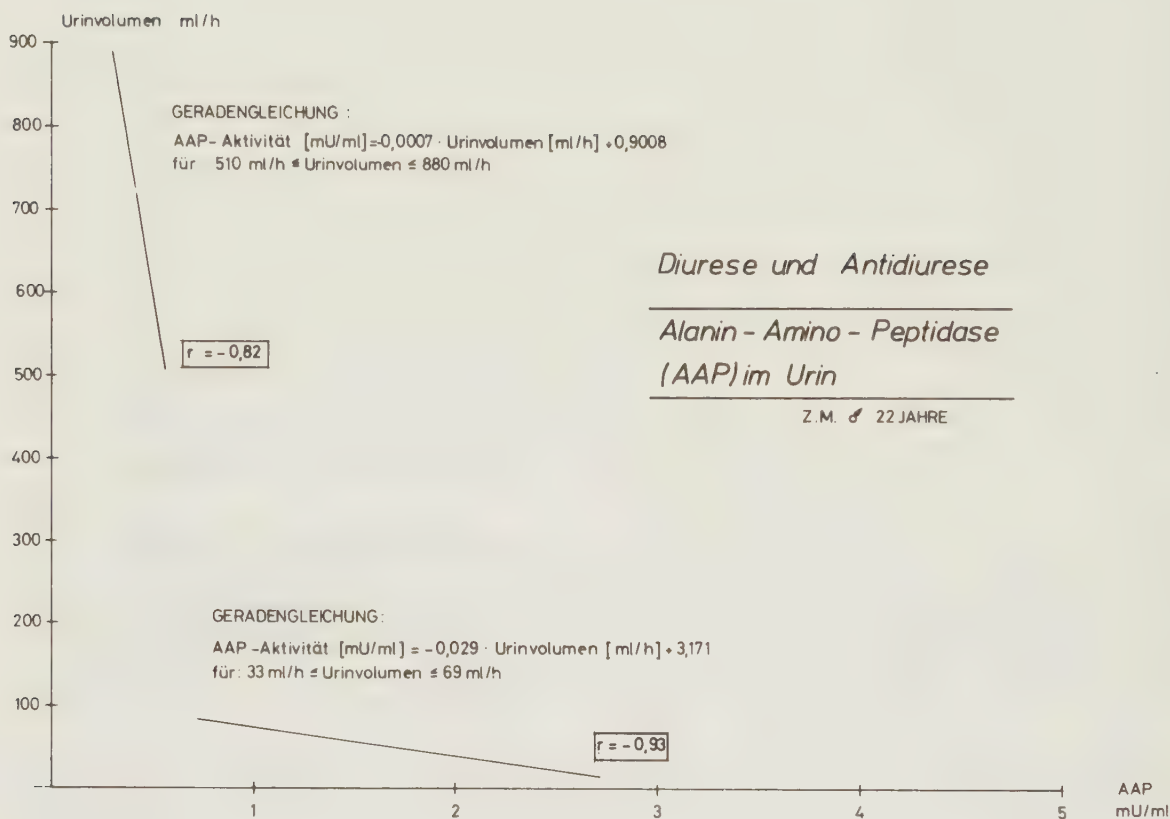


Abb. 42

- AAP im Urin:
Wasserbelastungsversuch
- Unterschiedliche Regressionsgeraden für Diurese und Enzymurie bei extremer bzw. normaler Diureseleistung
- Empirische Korrelationskoeffizienten (r)

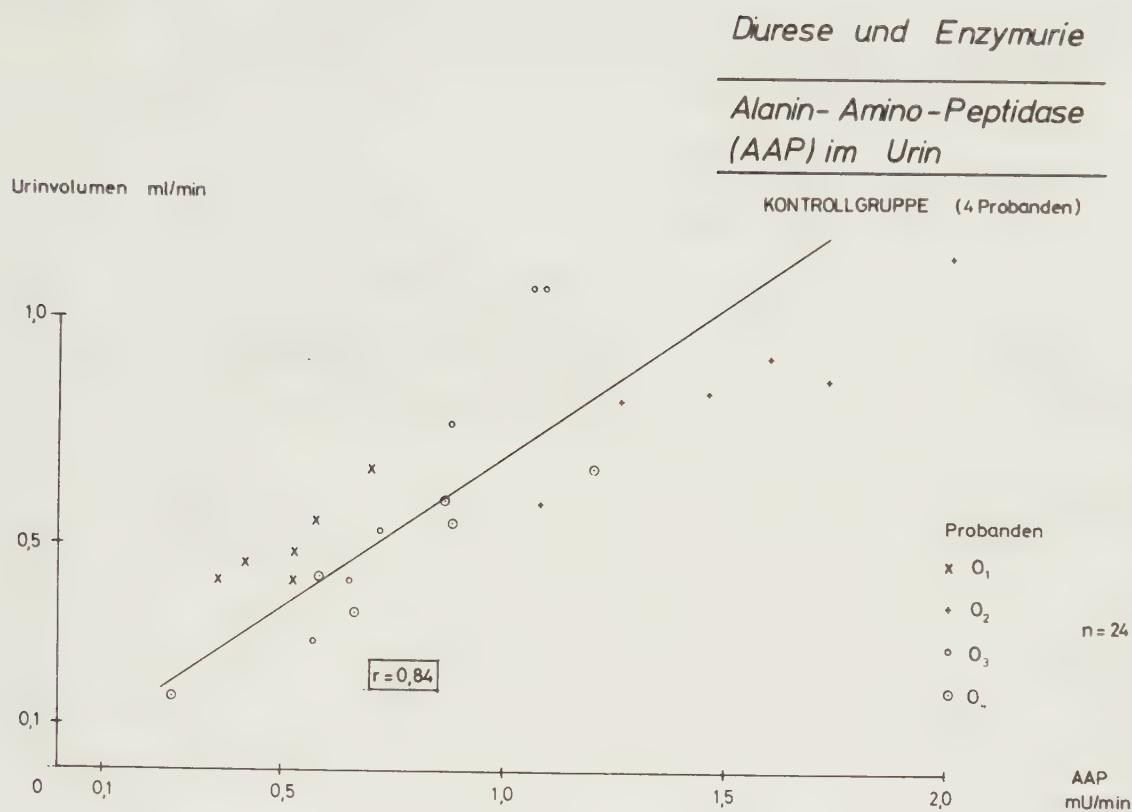


Abb. 43 - AAP im Urin:
 Diurese und Enzymurie (Kontrollgruppe)
 - Punktwolke mit Regressionsgerade
 - Empirischer Korrelationskoeffizient (r)

Die Aufschlüsselung der Punktwolke aus Abb. 43 läßt auch für den Einzelfall starke lineare Abhängigkeit vermuten. Abb. 44 demonstriert die entsprechenden individuellen Regressionsgeraden mit ihren hohen empirischen Korrelationskoeffizienten. Das Verhalten der Durchschnittswerte aus der Kontrollgruppe ist in Abb. 45 wiedergegeben. Erwartungsgemäß findet sich auch hier die hohe Korrelation.

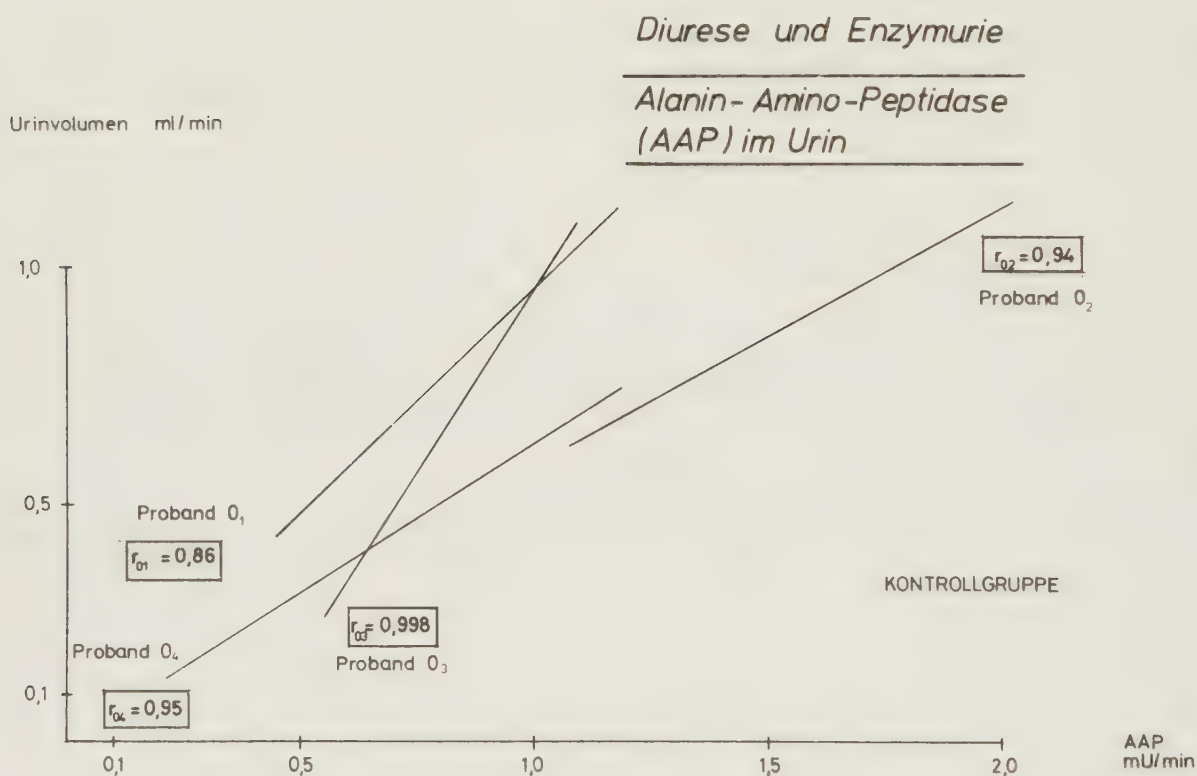


Abb. 44

- AAP im Urin:
Diurese und Enzymurie (Kontrollgruppe)
- Individuelle Regressionsgeraden
- Empirische Korrelationskoeffizienten
($r_{01} - r_{04}$)

Urinvolumen ml/min

Alanin-Amino-Peptidase
(AAP) im Urin

Diurese und Enzymurie

KONTROLLGRUPPE n=4

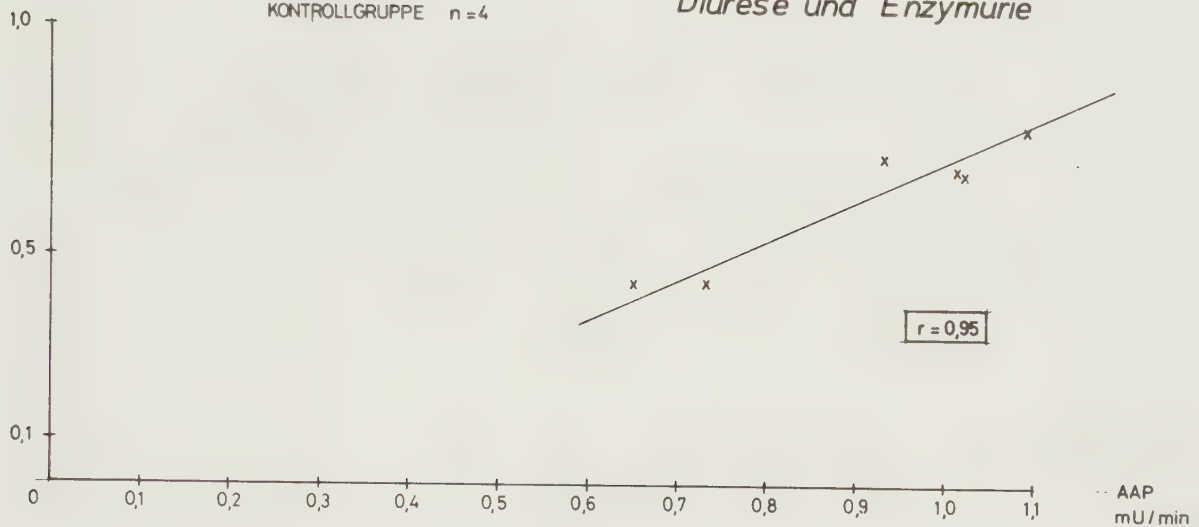


Abb. 45

- AAP im Urin (in mU/Min.):
Diurese und Enzymurie (Kontrollgruppe)
- Regressionsgerade der Durchschnittswerte
- Empirischer Korrelationskoeffizient (r)

Anhand der Abb. 46 soll erläutert werden, daß auch die AAP-Aktivität/ml und das Urinvolumen/Min. in einem linearen Abhängigkeitsverhältnis stehen. Zu diesem Zweck erfolgte die Einsetzung der Durchschnittswerte (vergleiche Abb. 45). Die negative Steigung der Geraden zeigt in Analogie zum Wasserbelastungsversuch die Abnahme der Enzymaktivität/Volumeneinheit bei steigendem Urinvolumen/Zeit.

Diurese und Enzymurie

Alanin - Amino - Peptidase
(AAP) im Urin

KONTROLLGRUPPE n = 4

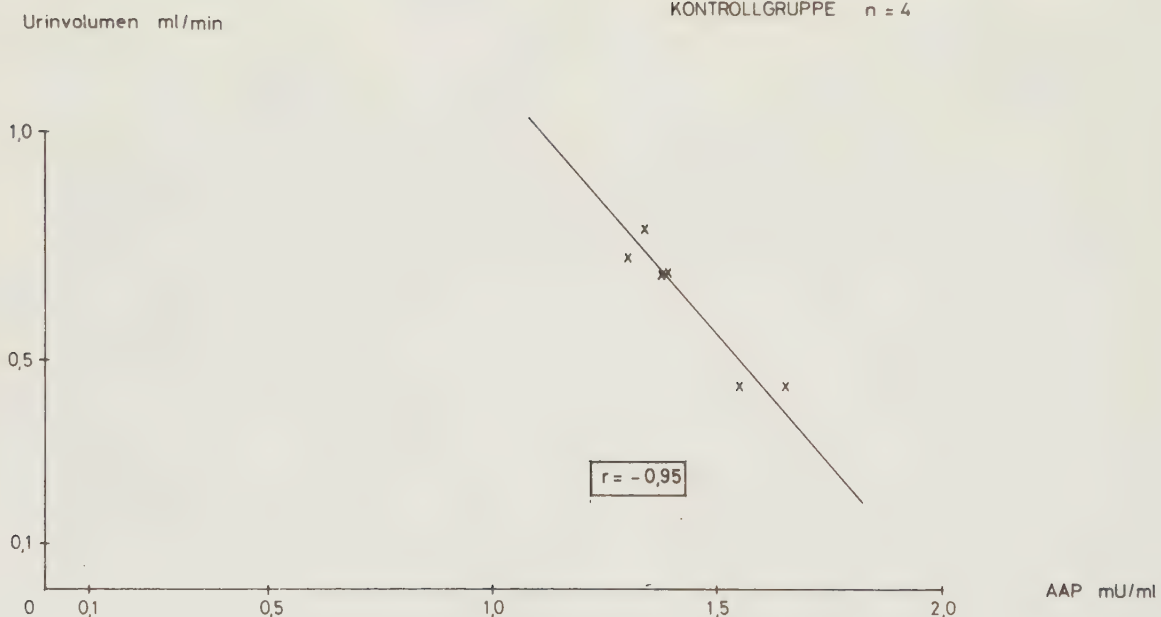


Abb. 46 - AAP im Urin (in mU/Min.):
 Diurese und Enzymurie (Kontrollgruppe)
 - Regressionsgerade der Durchschnittswerte
 - Empirischer Korrelationskoeffizient (r)

Die Urinvolumina sind im einzelnen in Tab. 31 aufgelistet. Tab. 32 beinhaltet die Wertepaare für Abb. 46. Hieraus sind in Ergänzung durch Tab. 26 unter 4.2.1. alle für die Abbildungen 43 - 46 nötigen Daten ersichtlich.

Proband Nr.	Urinvolumen [ml/Min.] im Sammelintervall					
	-2.-0.h	0.-2.h	2.-4.h	4.-6.h	6.-8.h	8.-22.h
O ₁	0,67	0,42	0,46	0,55	0,48	0,42
O ₂	0,87	0,92	1,14	0,84	0,82	0,59
O ₃	1,07	0,77	0,53	1,07	0,29	0,42
O ₄	0,55	0,67	0,61	0,43	0,16	0,35

Tabelle 31 - Urinvolumina der Kontrollgruppe
 - Sammelbeginn entspricht -2. Stunde
 - Sammelende entspricht 22. Stunde
 (siehe auch 3.2.2. und 4.2.1.)

Meßgröße	Sammelintervall					
	-2.-0.h	0.-2.h	2.-4.h	4.-6.h	6.-8.h	8.-22.h
Urinvo- lumen [ml/Min.]	0,78	0,69	0,68	0,72	0,44	0,44
AAP-Akti- vität [mU/ml]	1,34	1,39	1,38	1,30	1,55	1,65

Tabelle 32 - Durchschnittsurinvolumina/Min.
 - Durchschnittsenzymaktivität/ml der
 Kontrollgruppe

Mit den Resultaten der Leerwerttage O₁ und O₂ stand weiteres Ergebnismaterial zur Verfügung, um die Korrelation zwischen Diurese und Enzymaktivität zu untersuchen. Die Regressionsgerade in Abb. 47 basiert auf allen 47 Wertepaaren der Tabellen 1 (siehe 4.1.1.1.1.) und 33.

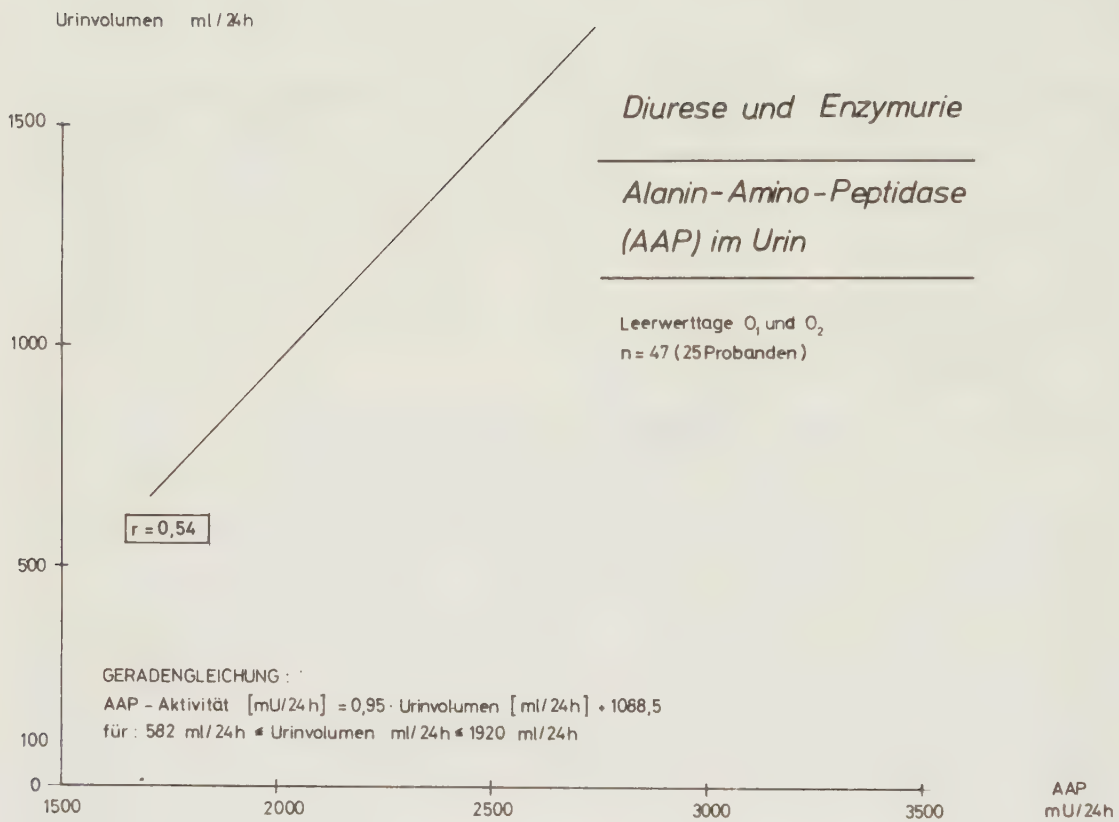


Abb. 47

- AAP im Urin:
Diurese und Enzymurie (Leerwerttage O_1 und O_2)
- Regressionsgerade
- Empirischer Korrelationskoeffizient (r)

Proband Nr.	Urinvolumina [ml/24 h] an den Leerwerttagen	
	O_1	O_2
200	582	675
201	770	800
202	730	1370
204	-	1600
205	1210	-
206	784	1260
207	1120	940
208	1240	1020
209	1520	1430
210	-	1520
213	1020	1180
214	912	1480
215	1325	910
216	1080	1530
221	1263	1070
224	1920	1540
211	1570	855
212	820	1005
219	1820	753
225	983	938
217	1463	1442
218	1460	692
220	1900	1500
222	1072	1573
223	800	963

Tabelle 33 - Urinvolumina zu Tab. 1 unter 4.1.1.1.1.

Abb. 48 spiegelt das gegensätzliche Verhalten der AAP-Aktivität, bezogen auf einen Milliliter bzw. auf die Gesamtausscheidung bei unterschiedlichen Urinvolumina/24 h, wider. Wie im Wasserbelastungsversuch und mit der Kontrollgruppe nachgewiesen, sinkt die Aktivität/Volumeneinheit bei stärkerer Diurese, die gesamtvolumenbezogene Aktivität/Zeit steigt jedoch gleichzeitig an.

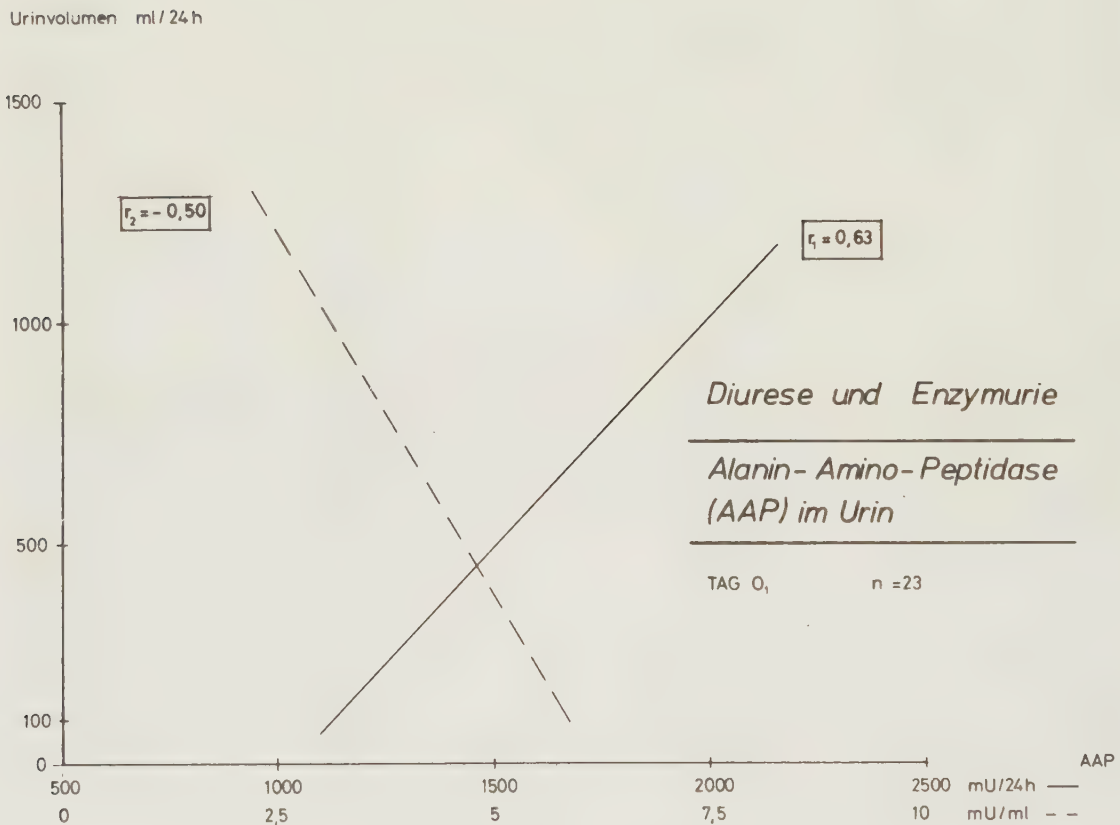


Abb. 48

- AAP im Urin:
Diurese und Enzymurie (Leerwerttag 0₁)
- Regressionsgeraden
- Empirische Korrelationskoeffizienten (r_1 und r_2)

4.5. Bestimmung der Antibiotikarestaktivität im Serum

Die Seren der Versuchstage 0₂, 1, 2, 3 und 7 wurden auf evtl. Restaktivität der Antibiotika untersucht, wobei für diese Bestimmungen das Blut jeweils in den letzten 10 Minuten des entsprechenden Versuchstages gewonnen wurde. Antibiotisch aktiv waren nur noch 2 Seren. Zum einen handelte es sich bei Proband 208 um das des 1. Versuchstages. Es waren hier noch 4,39 µg Cephacetril/ml nachzuweisen. Zum anderen zeigte die Probe von Teilnehmer 222, Tag 1, eine Restaktivität von 4,21 µg Cephalotin/ml.

Bei allen anderen Seren erbrachten die Untersuchungen negative Ergebnisse. Da auch allen Leerwertproben (Tag 0₂) das Fehlen von Aktivität bescheinigt werden konnte, war so der Nachweis der Antibiotikaabstinenz zu Versuchsbeginn geführt.

4.6. Das Verhalten der Nierenfunktionsparameter unter Cephalosporinapplikation

Auch für die Bestimmung des Kreatinins und des Harnstoffs fanden die Seren der Versuchstage 0₂, 1, 2, 3 und 7 Verwendung. In den entsprechenden Urinen wurde der Harnkreatininhalt für die endogene Kreatinin-Clearance ermittelt. Bei allen Probanden bewegten sich diese Nierenfunktionsparameter während aller Versuchstage im Normalbereich.

4.7. Verträglichkeit

Alle 3 Cephalosporinderivate wurden im allgemeinen gut vertragen. In 2 Fällen (200, 215) trat unter Cephacetril, in einem Fall (212) unter Cephazolin Diarrhoe auf. Eine Probandin (202) erkrankte 3 Wochen im Anschluß an die letzte Cephacetrilmedikation an Vaginal-Soor. Bei Teilnehmer 221 mani-

festierten sich unter der ersten Infusion von Cephacetril allergische Hauterscheinungen (Urticaria, Pruritus), so daß ein Versuchsabbruch unumgänglich wurde. Über Übelkeit nach den Infusionen klagten die Probanden 200 und 214 (Cephacetril) sowie Nr. 212 (Cephazolin). Thrombophlebitiden wurden nicht festgestellt.

5. DISKUSSION

5.1. Diskussion der Methoden

5.1.1. Diskussion der Methoden: Probandenauswahl

Die vorliegende Untersuchung verfolgte als Zielsetzung die Abklärung möglicher nephrotoxischer Effekte der drei Cephalosporinantibiotika beim nierengesunden Menschen. Mit der Heranziehung der unter 3.1.2. aufgeführten Kriterien der Nierenfunktionsbeurteilung (Kreatinin im Serum, Harnstoff im Serum, endogene Kreatinin-Clearance, Eiweißnachweis im Harn) wurde gewährleistet, daß alle Versuchspersonen dem Postulat "uneingeschränkte Nierenfunktion" Rechnung trugen.

Weiterhin bestand zum Versuchszeitpunkt bei keinem Teilnehmer eine manifeste Erkrankung; zusätzliche Medikamente wurden in keinem Fall eingenommen.

5.1.2. Diskussion der Methoden: Technischer Ablauf des Versuches

Um die genaue zeitliche Einhaltung der vorgeschriebenen Sammelintervalle abzusichern, wurden die Probanden bis auf wenige Ausnahmen so bestellt, daß sie z.B. bei den neuntägigen Versuchsreihen (siehe 3.2.1.) mit Ende der jeweiligen 24stündigen Sammelperiode aufgefordert werden konnten, nochmals die Blase zu entleeren. Die Versuchspersonen waren also die letzten Minuten der Sammelintervalle anwesend und konnten sofort mit neuen Sammelgefäßen für den nächsten Zeitabschnitt ausgerüstet werden. Dies trifft sinngemäß auch für die Versuche zum Tagesprofil der Enzyme zu, bei denen zwei-, zehn- bzw. zwölfstündige Sammelintervalle eingehalten werden mußten (siehe 3.2.2.). Dieses Vorgehen garantierte noch dazu den

pünktlichen Beginn der festgelegten Cephalosporininfusionen in den ersten 3 Minuten der Sammelperioden.

Als Richtzeit für die Infusionsdauer wurden 30 Minuten gewählt. Sie konnte annähernd eingehalten werden, wie die Werte für die kürzeste (26 Min.) und längste (37 Min.) Applikationszeit widerspiegeln. Alle verwendeten Antibiotikallösungen wurden einige Minuten vor Infusionsbeginn frisch hergestellt.

5.1.3. Diskussion der Methoden: Bestimmungsmethoden

Urin erwies sich grundsätzlich als geeignetes Bestimmungsmedium für Enzyme. Störfaktoren wie Aktivitätsverlust der Enzyme während der Sammelperiode exponentiell zu Zeit und Temperatur sowie eventuelle starke Keimvermehrung (10, 11 89, 106, 129, 253) ließen sich durch konsequente Kühlung des Urin, schnelle Verarbeitung sowie durch Zugabe von Natriumacid zur Unterdrückung des Bakterienwachstums auf ein Mindestmaß zurückdrängen. Die Problematik des Einflusses des Diuresezustandes auf die Enzymurie wird unter 5.2.2.2. dargestellt.

5.1.3.1. Diskussion der Methoden: Kinetische Bestimmung der Alanin-Amino-Peptidase im Nativharn

Die Alanin-Amino-Peptidase zeigte eine konstante Reaktionsgeschwindigkeit im Bestimmungsansatz mit Nativurin. So erwies sich bei vielen Stichproben die Enzymaktivität 30 Min. nach Reaktionsbeginn als unverändert gegenüber den Anfangsmessungen. Aber nicht nur das kinetische Verhalten zeichnet die AAP besonders aus, auch die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse räumt diesem Enzym eine Sonderstellung der Alkalischen Phosphatase und der gamma-Glutamyltransferase gegenüber ein. Die bei den regelmäßig durchgeführten Doppelbestimmungen aufgetretenen Differenzen zwischen den beiden Meßwer-

ten bewegten sich zwischen 0-8 % des kleineren Wertes. In der Regel lagen sie unter 6 %. Da nur die entsprechenden Mittelwerte in die Auswertung einbezogen wurden, erreichte diese Bestimmung eine hohe Genauigkeit.

Vergleichende Messungen im Harnkonzentrat erwiesen eine starke Beeinträchtigung der AAP-Enzymaktivität in der kinetischen Messung. Zur Erläuterung seien einige Resultate einander gegenübergestellt. Bei dem Probanden 201 (siehe Abb. 14 unter 4.1.2.1.1.) wurde am Leerwerttag O_1 eine Alanin-Aminopeptidase-Aktivität von 1848 mU/24 h im Nativharn bestimmt. Im Harnkonzentrat dagegen waren nur noch 28 mU/24 h nachweisbar; ein Wert, der an der unteren Nachweisgrenze der Methode liegen dürfte. Leerwerttag O_2 desselben Teilnehmers erbrachte 1522 mU/24 h im Nativharn, keine Aktivität dagegen im Urinkonzentrat. Eine Betrachtung des Tages 3 (also nach der 3. Cephacetrilinfusion) des genannten Probanden hat mit 4935 mU/24 h im Nativharn und 308 mU/24 h im Harnkonzentrat eine entsprechende Relation aufzuweisen. In Prozent ausgedrückt, entspricht dies einem Aktivitätsabfall von über 90 %. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei anderen Stichproben erzielt. In einer Studie berichten MONDORF et al. (150) über die Enzymurie bei einem aus 44 klinisch gesunden Normalpersonen bestehenden Kollektiv. Nur bei 8 der 44 Probanden erreichte die AAP eine meßbare Ausscheidung bis zu 300 mU/24 h im Harnkonzentrat. Diese Werte decken sich also völlig mit den in der vorliegenden Untersuchung erhaltenen.

Die bisherigen Ausführungen zeigen deutlich die Empfindlichkeit der AAP bezüglich verschiedener Verarbeitungsgänge (Zentrifugation $\rightarrow$ Konzentration $\rightarrow$ Lagerung bei -18°C $\rightarrow$ Auftauen), die alle bei der Interpretation der kinetischen Aktivitätsmessungen mit berücksichtigt werden müssen. Da solche äußeren Einflußfaktoren einer gewissen Fluktuation unterworfen sind (Filterdichte, Reinheitszustand der DC-2 Kammer, Temperatur der Kammer, Konzentrierungsgeschwindigkeit, Lagerungs-

dauer u.a.), kann hier wohl auch der Schlüssel für die Tatsache gesehen werden, daß der höchste Wert bei der kinetischen Messung im Nativharn und bei der im Harnkonzentrat nicht immer korrespondieren, d.h. am gleichen Tag aufzufinden sind. Exemplarisch wurde dieser Vergleich bei 3 Probanden durchgeführt, wobei nur in einem Falle relative Identität der Resultate attestiert werden konnte.

Nach allen getroffenen Feststellungen erschien es einzig sinnvoll, die kinetische Alanin-Amino-Peptidase-Bestimmung im Nativharn durchzuführen. Abwägend wurde dabei auf den dialysierenden Effekt des Konzentriervorgangs verzichtet, der fragliche Inhibitoren der AAP vermindern soll (106,129, 146,147,179,218). Gleichzeitig wurde auch eine Zerstörung der Enzymaktivität durch das Einfrieren vermieden.

Als weitere Störgrößen der Aktivitätsbestimmungen von Enzymen im Urin seien Urin-pH, Zusammensetzung des ionalen Milieus mit Anwesenheit von Aktivatoren und Inhibitoren sowie der Proteingehalt erwähnt (106). SACK demonstrierte die Veränderungen des Enzymgehaltes von Harnen unbehandelter Ratten bei Kontamination mit Blut. Während die Aktivitäten der AP und GLDH unverändert blieben, zeigten insbesondere die LDH und MDH starke Aktivitätssteigerungen. Demgegenüber führten Harnverunreinigungen durch Fäzes vorrangig zu Aktivitätssteigerungen der LAP und AP (211).

5.1.3.2. Diskussion der Methoden: Immunologische Bestimmung der Alanin-Amino-Peptidase im Harnkonzentrat

Für den immunologischen AAP-Nachweis sind hohe Antigenkonzentrationen im Untersuchungsmaterial Voraussetzung, sie werden nur im Harnkonzentrat erreicht. Die immunologische Methode unterscheidet sich grundsätzlich von der kinetischen. Letztere spiegelt die Aktivität des Enzyms wider, wohingegen die immunologische Reaktion das Enzymprotein als Antigen er-

faßt, und zwar unabhängig von der Aktivität seines Zentrums. Dabei kommen auch solche Enzyme zur Darstellung, die bei der kinetischen Bestimmung aufgrund ihrer Inaktivität nicht einbezogen werden. Diskrepanzen zwischen kinetisch ermittelten AAP-Werten (besonders im Harnkonzentrat, siehe 5.1.3.1.) und immunologischer AAP-Darstellung werden so erklärbar. Die immunologische Auswertung erbringt somit die aussagekräftigsten Ergebnisse. Sie ist nicht nur unabhängiger von Störfaktoren (Dialyseeffekt für Substanzen mit einem MG < 10.000 , keine Abhängigkeit von der Aktivität des enzymatischen Zentrums, s.o.), sondern reagiert durch die hohe Spezifität des mit Humanserum erschöpfend absorbierten Antiserums nur mit der Bürstensaum-AAP. Die kinetische Methode könnte die Alanin-Amino-Peptidase aus anderen Organen, wie z.B. aus Membranen der Leber oder des Intestinaltraktes, miterfassen, wenngleich die bedeutendste Menge der im Urin erscheinenden AAP aus dem proximalen Tubulus stammt.

In dieser Arbeit wurde eine semiquantitative Auswertung betrieben, d.h. Präzipitationshöfe nach ihrer Größe und Basisbreite beurteilt, ohne ihre Fläche exakt zu bestimmen und mit entsprechenden Standards zu vergleichen. Es wurde also eine Aussage über die Frage angestrebt, ob erstens überhaupt AAP immunologisch nachweisbar war und ob sich zweitens unterschiedliche Enzymmengen als Peaks verschiedener Größe darstellen ließen.

Zur Zeit befaßt sich die Arbeitsgruppe MONDORF intensiv mit der Methode zur Standardisierung und quantitativen Auswertung des immunologischen AAP-Nachweisverfahrens. Die ersten Ergebnisse sind erfolgversprechend.

5.1.3.3. Diskussion der Methoden: Kinetische Bestimmung der gamma-Glutamyltransferase und der alkalischen Phosphatase im Urinkonzentrat

Im Gegensatz zur AAP, deren Nachweis im Nativharn entscheidende Vorteile besitzt, zeigten die AP und die gamma-GT keine

konstante Reaktionsgeschwindigkeit in den Bestimmungsansätzen. Während bei der gamma-GT dieses Verhalten nur gering ausgeprägt war, manifestierte es sich bei der AP um so stärker, wobei in einigen Fällen neben einer raschen Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit sogar Richtungsumkehr mit negativen Werten zu verzeichnen war. Durch Reduktion des Probevolumens gelang es nicht, einen konstanten Reaktionsverlauf herbeizuführen. Dies legt die Folgerung nahe, daß keinesfalls ein erschöpfender Substratverbrauch als Ursache dieses kinetischen Verhaltens in Frage kommt. Verantwortliche Faktoren könnten Inhibitoren sein. Diese Hemmstoffe sind auch für die AP (7, 8, 12, 19, 29, 30, 31, 62, 72, 170, 185, 187, 188, 252, 253) und gamma-GT (13, 98, 104, 236, 244) beschrieben worden. Unter 5.1.3.1. findet sich eine Auflistung möglicher weiterer Störgrößen.

Ausgehend von diesen Erwägungen wurde die AP und die gamma-GT im Harnkonzentrat bestimmt, wobei ein völlig befriedigendes Verhalten nur für das letztgenannte Enzym feststellbar war. Die AP bot nun zwar eine günstigere Reaktionskinetik als zuvor, die Reproduktion der Resultate gestaltete sich aber schwierig, so daß oft Sechsfachbestimmungen durchgeführt werden mußten. Die Reaktionsgeschwindigkeit der AP erwies sich zudem im Harnkonzentrat nur für eine sehr kurze Zeitspanne (ca. 1-3 Min.) als konstant. Keine Probleme warf hingegen die Doppelbestimmung der gamma-GT auf, ihre Werte unterschieden sich lediglich in der Größenordnung von 0-10 % des kleineren Wertes voneinander.

Die Ausführungen legen die Vermutung nahe, daß der Konzentrierungsvorgang auf Grund der durch seinen gleichzeitigen Dialyseeffekt herbeigeführten Verminderung von Hemmstoffen günstigere Auswertungsbedingungen für die beiden Enzyme schafft. Rein aus diesen Überlegungen heraus wurde die Aktivitätsbestimmung der gamma-GT und AP im Harnkonzentrat durchgeführt, obwohl auch hier die unter 5.1.3.1. angeführte

Kritik ihre Berechtigung behält. So erfährt, wie schon für die AAP aufgezeigt, die Enzymaktivität eine deutliche Beeinträchtigung. Belegt wird dies durch vergleichende Messungen, z.B. bei Proband 201. Hier stehen sich bei der gamma-GT als Werte 5673 mU/24 h (Nativharn) und 1435 mU/24 h (Harnkonzentrat), sowie 15471 mU/24 h (Nativharn) und 3334 mU/24 h (Harnkonzentrat) gegenüber. Ein analoges Bild bietet sich für die AP: 5799 mU/24 h (Nativharn) zu 106 mU/24 h (Harnkonzentrat).

Dennoch erschien die Bestimmung der AP und der gamma-GT aus dem Harnkonzentrat als Methode der Wahl, da hiermit frappante Fehler, z.B. durch Inhibitoren oder extreme Milieuverhältnisse im Nativharn, durch einen genauer kalkulierbaren Fehler ersetzt werden konnten.

Im Gegensatz zur AAP-Bestimmung im Nativharn läßt also besonders der AP- und weniger der gamma-GT-Nachweis im Konzentrat noch Wünsche offen. Da zudem die immunologischen Verfahren zur Darstellung der Alkalischen Phosphatase und der gamma-Glutamyltransferase noch unbefriedigend sind, muß der Alanin-Amino-Peptidase mit ihrer sehr konstanten Reaktionskinetik, der exakten Reproduzierbarkeit photometrischer Messungen und der Möglichkeit des nierenspezifischen immunologischen Nachweises die allergrößte Aussagekraft zugeordnet werden.

5.1.3.4. Diskussion der Methoden: Beeinflußbarkeit der Enzymaktivität durch die Antibiotika in vitro

Eine wichtige Fragestellung muß im Problem der direkten Interferenz von Medikamenten mit den Enzymen und damit ihrer Aktivität gesehen werden. In getrennten Versuchen wurden die Auswirkungen der drei Cephalosporinderivate auf das kinetische Nachweisverfahren sowie auf die immunologische AAP-Darstellungsmethode untersucht. Dabei zeigten sich alle Meßergebnisse bei Cephalosporinzusatz unverändert.

Für die Testung des Antibiotikaeinflusses auf die kinetisch-photometrische Bestimmung wurde Nativharn mit Cephacetril, Cephalotin bzw. Cephazolin versetzt, und zwar in dem Verhältnis, dem eine Lösung der applizierten Tagesdosen im Gesamturinvolumen entspricht. Modellhaft wurde hier eine 100%ige Elimination der Substanzen in aktiver unveränderter Form in den ersten 24 Stunden nach ihrer Infusion vorausgesetzt. Diese Überlegung trifft in guter Näherung besonders für Cephacetril und Cephazolin zu, wie pharmakokinetische Daten dokumentieren. So werden 70 % des Cephacetrils in aktiver Form nach 8 Stunden im Urin nachgewiesen (100), 90,6 % nach 24 Stunden (262). Vom Cephazolin werden innerhalb von 12 Stunden 90 % und mehr in den Harn eliminiert (100). Beim Cephalotin dagegen ist ein abweichendes Verhalten zu beobachten. 60-75 % werden zwar nach 12 Stunden im Urin ausgeschieden, 30-40 % davon aber in desacetylierter Form (100).

Ganz im Vordergrund dieser Versuchsplanung stand die AAP. Da ihre kinetische Bestimmung im Nativharn erfolgte, erscheint eine Übertragung diese In-vitro-Versuchs auf die In-vivo-Verhältnisse gerechtfertigt. Die Alanin-Amino-Peptidase-Aktivität wird also durch die verwendeten Antibiotika nicht tangiert (siehe 4.3.1.).

Auch die AP und die gamma-GT zeigten sich im Nativharn von der Antibiotikaeinwaage unbeeinflusst. Da aber die Enzymaktivitäten im Konzentrat ermittelt wurden, ist die Frage nach der Übertragbarkeit der Ergebnisse berechtigt. Hier muß zunächst berücksichtigt werden, daß es beim Konzentrierungsvorgang wegen der geringen Molekulargewichte der Cephalosporine zu einer starken Elimination dieser Substanzen in das Filtrat kommt. Ferner unterscheiden sich Nativharn und Konzentrat auch hinsichtlich des Proteingehaltes. Im Harnkonzentrat dürften also die Antibiotikaspiegel niedriger liegen als im obigen Modellversuch. Da dennoch auch bei diesen höheren Cephalosporinkonzentrationen keine Beeinträchtigung

der Enzymaktivität auftrat, läßt das ein indifferentes Verhalten der Antibiotika gegenüber der AP- und gamma-GT-Aktivität vermuten.

SACK (211) versuchte im Tierexperiment den Antibiotikaeinfluß anhand des Zusatzes definierter Mengen verschiedener Enzyme zu gepoolten Harnen unbehandelter bzw. Aminoglykosid- oder Cephalosporin-behandelter Ratten darzustellen. Dabei fand er keine Hemmung der AP-Aktivität bei deren vergleichender Inkubation mit gepoolten Harnen unbehandelter bzw. Cephalozolin-behandelter Tiere (5000 mg/Kg/die). Im Falle des Cephalotin (5000 mg/Kg/die) stellte er eine Aktivitätsminderung der AP um 40 % fest.

Kann man auch den Tierversuch von SACK nicht direkt mit dem hier unternommenen vergleichen, so lenkt er doch auf die Bedeutung evtl. auftretender Interferenzen mit den Aktivitäten von Harnenzymen hin.

Vorrangig bleibt festzuhalten, daß gerade die AAP nicht durch die untersuchten Antibiotika in ihrer kinetisch-photometrisch ermittelten Aktivität beeinträchtigt oder gesteigert wurden. Auch die immunologische AAP-Darstellung, bei der AAP-Standard mit Cephalosporinlösungen bzw. H₂O inkubiert wurde, bot keine Anhaltspunkte für eine Wechselwirkung zwischen Enzym und Testsubstanz. Eine direkte Reaktion der Antibiotika mit dem immunologischen Nachweismedium wurde ausgeschlossen (siehe 4.3.2.).

5.2. Diskussion der Ergebnisse

Ein überaus wichtiges Bewertungskriterium für die Aussagekraft von Enzymbestimmungen im Urin als Parameter nephrotoxischer Arzneimittelwirkungen muß im Grad der Nierenspezifität der Untersuchungsmethode gesehen werden. Für Harn-

enzyme sind nämlich die verschiedensten Herkunftsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen (102,129,185,186,187):

- die Niere und die ableitenden Harnwege
 - aus dem Zytoplasma der Tubuluszellen
 - aus den Tubulusbürstensäumen
 - aus der Lymphe und Zellen der ableitenden Harnwege
- das Serum
 - durch Filtration im Glomerulum
- die Drüsen des Urogenitalapparates
- die dem Urin beigemengten Bestandteile wie Leukozyten, Erythrozyten oder Bakterien

Mit der immunologischen Darstellung der Alanin-Amino-Peptidase des proximalen Tubulusbürstensaums wurde eine Bestimmungsmethode angewandt, bei der eine Störanfälligkeit im Sinne der Miterfassung anderer Enzymquellen beim Meßvorgang ausgeschlossen ist. Kinetisch-photometrische Nachweise nicht exklusiv tubulär lokalisierter Enzyme oder Isoenzyme können eine solche Sicherheit nicht bieten, wenn auch durch den AAP-Reichtum des proximalen Tubulusbürstensaums und den hier zu bewältigenden hohen transmembranalen Flußraten (verifiziert durch die in verschiedenen Tierversuchen unter Cephalosporinapplikation bewiesenen morphologischen Alterationen eben dieses proximalen Tubulus) gerade der kinetischen Alanin-Amino-Peptidase-Bestimmung im Nativharn eine große Bedeutung zukommt.

5.2.1. Diskussion der Ergebnisse: Alkalische Phosphatase, gamma-Glutamyltransferase

Neben der AAP wurden mit der AP und der gamma-GT auch die beiden anderen Leitenzyme des proximalen Tubulus mit in die Untersuchungen einbezogen. Ihre immunologische Aufarbeitung und spezifische Anfärbung wurde zwar in der Arbeitsgruppe

MONDORF wiederholt durchgeführt (106,218,228), vermochte aber besonders wegen mangelhafter Reproduzierbarkeit nicht zu überzeugen. Die Möglichkeit der eindeutigen Zuordnung der AP und der gamma-GT des Urins zum proximalen Tubulus steht somit aus. Eine extrarenale Quelle muß für die gamma-GT in geschlechtsspezifischen Drüsen der ableitenden Harnwege angenommen werden (106). So haben Samenblasenflüssigkeit und Spermien eine außerordentlich hohe gamma-GT-Aktivität aufzuweisen (104). Dies könnte die höhere Ausscheidung im 24 h-Urin bei Männern erklären (13, 98), die auch hier für die Mittelwerte der Leerwerttage O_1 und O_2 bestätigt werden konnte. Eine weitere Schwierigkeit manifestiert sich in der Abhängigkeit der gamma-GT-Harnausscheidung von der Kreatinin-Clearance (98,104,115). Sie gibt Anlaß zur Vermutung, daß schon bei Normalpersonen gamma-GT glomerulär aus dem Serum filtriert wird. Erhärtet wird diese These auch durch die Beobachtung einer geringen Enzymausscheidung bei Patienten mit stark eingeschränkter Nierenfunktion durch Glomerulonephritiden (106). Weiterhin wurde für die gamma-GT eine positive Rangkorrelation zu den Serumwerten ermittelt (106). Da bereits Isoenzyme entdeckt (239), und auch als Pre-A-A, A-Alpha-1-, Alpha-1 - Alpha-2-, Alpha-2-, Alpha-2- β -, β -Gamma- und O-gamma-GT-Isoenzyme den verschiedenen Serumproteinfraktionen zugeteilt wurden (176), läßt sich anhand deren Molekulargewichte für einige davon eine Filtration aus dem Serum vermuten (106).

Konträr zur gamma-GT war ein Geschlechtsunterschied für die Mittelwerte der AP-Urinaktivitäten der Leerwerttage O_1 und O_2 nicht festzustellen. Dies wird auch von anderer Stelle unterstrichen (141) und macht so die Genitalorgane als Herkunfts-ort unwahrscheinlich (106). Die Frage nach einer eventuellen Filtration der AP scheint noch ungeklärt. So wird einerseits über erhöhte Serumspiegel bei Erkrankungen der Leber und der Gallenwege bei gleichzeitig normaler Urin-Aktivität der AP berichtet (106,238). Andererseits liegen Ergebnisse über

einen Zusammenhang zwischen Harn-AP-Aktivität und Serum-Aktivität bei Unabhängigkeit von der Stärke der Proteinurie und der Nierenfunktion vor, ein Faktum, das als serumabhängige Sekretion oder einem entsprechenden Lymphverlust interpretiert werden könnte (106). Auch für die Urin-AP wurden Isoenzyme nachgewiesen (127).

Neben diesen angeführten Interferenzgrößen führt bei der gamma-GT ein weiterer Punkt zu einer Erschwerung der Interpretation ihrer Ergebnisse. Diesem Enzym muß nämlich ein extrem breiter Normalbereich zugeordnet werden, wobei nicht nur große interindividuelle Unterschiede, sondern auch von Tag zu Tag gravierende intraindividuelle Unterschiede bei der gamma-GT-Urinausscheidung auftreten. Zur Erläuterung seien höchster (21185 mU/24 h bei Proband 219) und niedrigster Wert (56 mU/24 h bei Proband 207) beider Leerwerttage dieser Untersuchung gegenübergestellt. Beide Resultate traten am Tag O_2 auf. Für den Tag O_1 ergibt sich hingegen ein anderes Bild. Der höhere Wert wurde mit 7838 mU/24 h bei Teilnehmer 207, der niedrigere mit 6660 mU/24 h entsprechend bei der Nr. 219 gemessen. (Weitere Beispiele unter 4.1.1.1.3). Die hier gezeigte große Schwankungsbreite korrespondiert gut mit den von MONDORF ermittelten gamma-GT-Aktivitäten zwischen 0 und 18000 mU/24 h bei Normalpersonen (150). Auch von anderen Untersuchern wird die starke Variabilität bestätigt (13, 106, 187).

Die Methode, weniger grobe nephrotoxische Arzneimittelwirkungen mittels der gamma-GT-Urinaktivität einzuschätzen, muß nach den bisherigen Ausführungen als ungeeignet angesehen werden, da die spontanen Aktivitätsschwankungen zu einer Kaschierung pharmakologisch bedingter Enzymurien führen. Eine Aussage über das Verteilungsmodell der gamma-GT im Urin bei Normalpersonen ist dahingehend möglich, daß sowohl gegenüber der Normalverteilung als auch der Lognor-

malverteilung statistisch signifikante Unterschiede bestehen. Eine andere Studie verwirft ebenfalls den Typus der Lognormalverteilung für die gamma-GT im Harn (98).

Die Alkalische Phosphatase zeigt im Gegensatz zur gamma-GT einen relativ engbegrenzten Normalbereich. Als Mittelwert der Leerwerttage O_1 und O_2 wurde 299 mU/24 h bei einer Standardabweichung von 184,3 mU/24 h festgestellt. Der höchste Wert war bei 806 mU/24 h, der niedrigste bei 40 mU/24 h anzusiedeln. Wird erneut die Untersuchung von MONDORF (150) über die Ausscheidung der Leitenzyme des proximalen Tubulus bei Normalpersonen zum Vergleich herangezogen (Minimum 36 mU/24 h, Maximum 867 mU/24 h), fällt die Übereinstimmung der Ergebnisse auf. Auch eine andere Studie aus dieser Arbeitsgruppe bestätigt mit einem Mittelwert von 307 mU/24 h die eigenen Resultate (106). Weiterhin konnte nachgewiesen werden, daß sich die Verteilung der AP im Normalkollektiv signifikant nicht von einer Lognormalverteilung unterscheidet. Trotz dieser bemerkenswerten Eigenschaften konnte die AP keine entscheidenden Beiträge zur genaueren Beurteilung der untersuchten Cephalosporinderivate liefern. AP- und gamma-GT-Verlaufsprofile verdeutlichen in diesem Zusammenhang besonders das Fehlen gravierender nephrotoxischer Wirkungen; als Parameter besitzen sie im Gegensatz zur AAP wesentlich geringere Empfindlichkeit. Ihre Bedeutung für diese Arbeit ist daher eher sekundärer Natur, an anderer Stelle (z.B. zur Klassifizierung von Glomerulonephritiden oder zur Erkennung von Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantationen) muß diesen beiden Enzymen weitaus größeres Gewicht zugesprochen werden.

5.2.2. Diskussion der Ergebnisse: Alanin-Amino-Peptidase

Bereits im Abschnitt 5.1. konnten wesentliche Vorzüge des Enzyms AAP demonstriert werden. So ist die kinetisch-photo-

metrische Aktivitätsbestimmung im Nativharn aufgrund der ausgezeichneten Reproduzierbarkeit der Resultate und der über viele Minuten konstanten Reaktionskinetik problemlos und dem Nachweis im Harnkonzentrat vorzuziehen. Ferner eröffnet die immunologische AAP-Darstellung einen spezifischen Weg zur Dokumentation von Alterationen der Bürstensaummembran des proximalen Nierentubulus. Eine Beeinflussung der Meßwerte durch die applizierten Cephalosporinantibiotika im Sinne einer Interferenz mit den Enzymreaktionen konnte unwahrscheinlich gemacht werden.

5.2.2.1. Diskussion der Ergebnisse: AAP-Normalwerte
(Tage O_1 und O_2)

Betrachtet man die AAP-Ausscheidung im 24 h-Sammelurin der Leerwerttage O_1 und O_2 , so stellt sich statistisch keine signifikante Abweichung vom Modell der Normalverteilung dar. Diese Übereinstimmung mit einer Gaußverteilung läßt sich also für das untersuchte Kollektiv an zwei aufeinanderfolgenden Tagen für jeden der Tage einzeln attestieren. Beim Mittelwertvergleich der beiden Leerwerttage (O_1 mit 2193,8 mU/24 h, O_2 mit 2222,9 mU/24 h) wird außerdem die geringe Differenz (29,1 mU/24 h) der Enzymaktivitäten und damit die Konstanz an unterschiedlichen Tagen für das Gesamtkollektiv markant. Aber auch im Einzelfall vermag die Gegenüberstellung der Leerwerte überaus gleichmäßige 24 h-Ausscheidungen an AAP zu verdeutlichen:

Proband Nr.	AAP mU/24 h	
	Tag O_1	Tag O_2
200	1426	1893
201	1848	1522
207	2608	2444
208	2480	2477
213	2306	2568

Proband Nr.	AAP mU/24 h	
	Tag 0 ₁	Tag 0 ₂
212	2558	2838
225	1947	2128
217	2227	2031
218	2139	2145

Als maximale Differenz zwischen den beiden Leerwerttagen bei allen 24 Probanden wurde 1400 mU/24 h ermittelt, wobei Abweichungen größer als 1000mU/24 h nur in 4 Fällen auftraten. Aus den obigen Ergebnissen folgt zwangsläufig eine enge Begrenzung des Normalbereichs im Histogramm, so liegen alle Leerwertresultate im Bereich zwischen 1000 - 3500 mU/24 h (4.1.1.1.1., Abb. 1, 2 und 3).

Es stellt sich nun die Frage nach der Herkunft dieser Basisaktivität. Als Quelle der AAP im Harn muß primär der proximale Nierentubulus angesehen werden. Schon ihre topochemische Lokalisation als von der Membranoberfläche leicht abdaubares und mit der Matrix der Membran weniger stark verbundenes Enzym (siehe unter 1.) prädisponiert im Rahmen physiologischer Zellmauserungs- und Membranumbauvorgänge die AAP zum Übertritt in das Tubuluslumen und damit in den Urin.

Die AAP ist allerdings nicht ausschließlich in der Bürstensaummembran lokalisiert. Untersuchungen an Schweinenieren erwiesen die Existenz löslicher und membrangebundener Amino-peptidasen. Lysosomen und Zytoplasma der Tubuluszellen werden hier als Ursprungsort der löslichen Form angesehen (249,250). Durch ein synthetisches Tripeptid war es möglich, die lösliche Fraktion der Schweinenierenaminopeptidase kompetitiv zu hemmen und so eine Unterscheidung herbeizuführen (85). Mit diesem Tripeptid gelang es MONDORF, auch die löslichen AAP-Fraktionen von den membrangebundenen zu differenzieren

und den zusätzlichen Nachweis dafür zu erbringen, daß der Anti-Plasmamembran-Antikörper (Anti-PM) nur mit den membran-gebundenen Enzymen reagiert (144).

Die Betrachtung der in der Elektroimmundiffusion gewonnenen Normalwerte (Leerwerttage O_1 und O_2 , siehe 4.1.1.2.) verdeutlicht, daß in keinem Fall eine spezifische Anfärbung der AAP und damit ihr immunologischer Nachweis möglich war. Der Anti-PM-Antikörper vermag also die kinetisch photometrisch verifizierte Basalaktivität nicht dem Bürstensaum zuzuordnen (kein Präzipitat trotz 90facher Konzentration des Urins Tag O_2 bei Proband 213 mit einer kinetisch-photometrisch gemessenen Aktivität von 2568 mU/24 h!). Dies scheint auf die lösliche AAP-Fraktion als Hauptaktivitätsträgerin im Urin bei Normalpersonen hinzuweisen. Die bei den physiologischen Zellmauserungsvorgängen erreichbaren Konzentrationen an membran-gebundener AAP im Harn liegen dabei wohl unter der Nachweisgrenze der Immunelektrophorese.

Das Serum als Quelle der AAP via Filtration in den Urin erscheint wegen des hohen Molekulargewichtes des Enzyms nicht ohne weiteres denkbar, besonders unter dem Aspekt, daß eine Proteinurie bei keiner Testperson vorlag. Dagegen spricht auch die Tatsache einer in einigen Fällen von Glomerulonephritis festgestellten, mit dem Grad der Nierenfunktionseinschränkung ansteigenden AAP-Ausscheidung (106).

Ergänzend sei noch auf die etwas höhere AAP-Aktivität im Urin männlicher Probanden hingewiesen (siehe unter 4.1.1.1.4). Bei nahezu gleichen Durchschnittsurinvolumina/24 h liegen die Mittelwerte der Leerwerttage O_1 und O_2 des männlichen Kollektivs ca. 450 mU/24 h über denen der weiblichen Gruppe. Die nach Geschlechtern getrennte Analyse macht ebenfalls wieder die Konstanz der mittleren AAP-Ausscheidung für zwei aufeinanderfolgende Tage augenfällig. Zusätzliche Hinweise auf eine höhere AAP-Elimination bei männlichen Individuen

können auch in den eintägigen Versuchsreihen erkannt werden. Dort liegt in der Kontrollgruppe der Graph des männlichen Teilnehmers deutlich über den anderen Kurven (abb. 33 unter 4.2.1.). Bei den Leerwerten der Cephacetrilversuchsgruppe sind die Ergebnisse beider maskuliner Versuchspersonen höher als die der beiden anderen femininen.

5.2.2.2. Diskussion der Ergebnisse: Diurese und Enzymurie (AAP)

Von verschiedenen Autoren liegen Untersuchungen über die Auswirkung des Diuresezustandes auf die Enzymurie vor (7, 84, 98, 106, 141, 186). JÖSCH und DUBACH vermochten anhand der Lactatdehydrogenase, der alkalischen Phosphatase und der Leucinaminopeptidase beim Menschen und im Tierversuch nachzuweisen, daß die pro ml Urin nachweisbare Enzymaktivität bei Antidiurese höher ist als bei Diurese. Bei der Diurese zeigt sich dennoch eine größere Gesamtaktivität pro Zeiteinheit. Es erwies sich, daß die beim Menschen mit durchschnittlicher Diurese bestimmten normalen Grenzwerte für Aktivität/Volumeneinheit und Gesamtaktivität/Zeiteinheit auch von Gesunden bei Diurese bzw. Antidiurese überschritten werden können (84). Daraus wird unschwer die Notwendigkeit ersichtlich, bei Aussagen über die AAP-Aktivität im Urin den Diuresezustand zu berücksichtigen.

Um Anhaltspunkte zu erhalten, wurde eine orale Wasserbelastung durchgeführt (siehe 3.4.2. und 4.4.1.). Dabei sank bei forcierter Diurese die AAP-Enzymaktivität/ml ab, gleichzeitig stieg jedoch die gesamt volumenbezogene Aktivität/Min. an. Umgekehrt war der Rückgang der Urinausscheidung von einer deutlichen Aktivitätszunahme/ml bei verminderter gesamt volumenbezogener Aktivität/Min. gefolgt.

Unter 4.4.2. konnte die Gültigkeit dieses Prinzips bei verschiedenen Kollektiven bestätigt werden. Für das Problem einer mathematischen Beschreibung dieser Zusammenhänge wurde

das Modell einer linearen Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese angewandt. Dabei ließen sich besonders für die Kontrollgruppe, bei der die AAP-Aktivität im Ablauf eines Tages wiederholt bestimmt wurde (siehe 3.2.2. und 4.2.1.), hohe empirische Korrelationskoeffizienten errechnen (Abb. 43-46 unter 4.4.2.). Die dort ermittelten Geradengleichungen ermöglichen in guter Annäherung eine mathematische Aussage über die Zusammenhänge. Dabei weisen aber bereits die Resultate des Wasserbelastungsversuchs darauf hin, daß eine Regressionsgerade nur dann ein befriedigendes Modell darstellt, wenn der Definitionsbereich (Urinvolumina/Zeit) nicht beliebig weit gefaßt wird. So demonstriert die Abb. 42 unter 4.4.1. zwei verschiedene Regressionsgeraden: Die Gerade bei extrem hohen Urinvolumina/Zeit besitzt einen viel größeren Steigungswinkel als diejenige, die auf den Wertepaaren bei den kleinen Urinvolumina basiert. Interpretierend formuliert, symbolisiert dieses Verhalten eine asymptotische Annäherung des Graphen an die Ordinate, d.h.: Strebt das Urinvolumen/Zeit gegen Unendlich, so nähert sich die Enzymaktivität/ml dem Wert 0. Ganz entsprechend wäre hierbei für den Graphen der Enzymaktivität/Zeit (Abszisse) in Abhängigkeit vom Urinvolumen/Zeit (Ordinate) eine asymptotische Annäherung an eine Parallele zur Ordinate anzunehmen. Am Schnittpunkt dieser Parallelen mit der Abszisse könnte dann theoretisch die höchstmögliche Enzymaktivität/Zeit abgelesen werden. Strebt umgekehrt das Urinvolumen/Zeit gegen 0, dann muß auch die Enzymaktivität/ml einen Maximalwert erreichen. Unbegrenzte Anstiege sind sowohl für die AAP-Aktivität/Zeit als auch für die Aktivität/ml undenkbar, da im Organismus nur ein begrenzter AAP-Pool existiert und auch einer Neubildung von Seiten des Synthesystems Schranken auferlegt sind.

Bezieht man diese Problematik in die Überlegungen mit ein, dann kann im Hinblick auf die Resultate unter 4.4.1. und 4.4.2. die Beschreibung der Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese mittels einer Geradengleichung als recht genau beurteilt werden, wobei der Grad der Genauigkeit mit dem Grad der Einengung des Definitionsbereichs (Urinvolumina/Zeit) zunimmt (vergleiche Abb. 41 und 42). Fielen z.B. im Rahmen eines Versuchs extrem hohe Harnvolumina/Zeit, verglichen mit dem übrigen Kollektiv, an, und würden diese infolge eines unbegrenzten Definitionsbereichs mit in die Auswertung einbezogen, so resultierte daraus eine steilere Regressionsgerade, als sie bei Ausschluß solcher Extremausscheidungen/Zeit zu erwarten wäre. Untermauern läßt sich diese These anhand der Abbildungen 40 und 42. Die Betrachtung der Graphen zeigt in Abb. 42 für Urinvolumina/Zeit ≤ 69 ml/h aufgetragen gegen die AAP-Aktivität/ml eine weitaus flachere Gerade, als sie in Abb. 40 bei Ausdehnung des Definitionsbereichs auf Urinvolumen/Zeit ≤ 880 ml/h errechnet wurde. Vice versa kann auch die isolierte Auswertung sehr hoher Harnvolumina/Zeit (50 ml/h $\leq$ Urinvol./Zeit ≤ 880 ml/h) nur eine steilere Regressionsgerade (Abb. 42) als in der zusätzlich auch aus Wertepaaren bei kleinen Harnausscheidungen/Zeit erstellten Abb. 40 (AAP-Aktivität in mU/ml) zur Folge haben. Die in Abb. 40 aufgetragene Beziehung zwischen Harnvolumen/Zeit und Enzymaktivität/ml stellt also die Synthese der beiden Geraden aus Abb. 42 dar.

Analoge Zusammenhänge sind zwingend auch für die Abhängigkeit der AAP-Aktivität/Min. vom Urinvolumen/Zeit zu postulieren. Sie lassen sich auch nach der Abb. 39 vermuten, besonders wenn das Wertepaar 3,65 mU AAP/Min. bei 685 ml Urin/h als Ausreißer eingestuft und entsprechend nicht berücksichtigt wird.

Wie hoch allerdings die Qualität einer Beschreibung der Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese mittels Geraden-

gleichung sein kann, beweisen die Abbildungen 43 und 44. Die individuellen Regressionsgeraden (Abb. 44) sind durch sehr hohe empirische Korrelationskoeffizienten charakterisiert, eine Tatsache, die aus der engen Streubreite der Meßpunkte (Abb. 43) bei den einzelnen Probanden resultiert. Setzt man nun die tatsächlich ausgeschiedenen Urinvolumina/Zeit z.B. der Versuchsperson O_4 (Tab. 31 unter 4.4.2.) in die dazugehörige Geradengleichung (AAP-Aktivität $[mU/Min.] = 1,6201 \times Urinvol./Zeit [ml/Min.] - 0,0096$) ein, so erhält man die theoretisch zu postulierenden AAP-Aktivitäten/Min. Sie weichen nur im Bereich von 0,00-0,13 mU/Min. von den im Versuch gemessenen Enzymaktivitäten ab, wie Tab. 34 dokumentiert.

AAP	Enzymaktivität $[mU/Min.]$ bei Stunde					
	0	2	4	6	8	22
theoretisch	0,88	1,07	0,98	0,68	0,25	0,56
tatsächlich	0,88	1,20	0,86	0,58	0,25	0,66
Differenz	0,00	0,13	0,12	0,10	0,00	0,10

Tabelle 34 - AAP im Urin (Proband O_4)
- Vergleich der Versuchswerte mit den nach der Regressionsgeraden postulierten Aktivitäten

Die analoge Auswertung für die Durchschnittswerte der Kontrollgruppe unter Zugrundelegung der dafür errechneten Geradengleichung (AAP-Aktivität $[mU/Min.] = 1,1378 \times Urinvol./Zeit [ml/Min.] + 0,1938$) ist in Tab. 35 wiedergegeben.

AAP	Enzymaktivität $[mU/Min.]$ bei Stunde					
	0	2	4	6	8	22
theoretisch	1,08	0,98	0,96	1,01	0,69	0,69
tatsächlich	1,09	1,01	1,02	0,93	0,65	0,73
Differenz	0,01	0,03	0,06	0,08	0,04	0,04

Tabelle 35 - AAP im Urin (Durchschnittswerte der Kontrollgruppe)
- Vergleich der Versuchswerte mit den nach der Regressionsgeraden postulierten Aktivitäten

Bezeichnend sind die nur geringfügigen Unterschiede von 0,01-0,08 mU/Min., besonders wenn in Betracht gezogen wird, daß bei den durchgeführten Doppelbestimmungen zur AAP-Aktivitätsmessung Abweichungen innerhalb von 10 % des kleinen Wertes (Qualitätskontrolle) zugelassen wurden, um jeweils Mittelwerte zu bilden.

Hinweise auf die Gültigkeit linearer Beziehungen zwischen Diurese und Enzymurie auch für sehr kleine Urinvolumina/Zeit können aus den Schnittpunkten der Regressionsgeraden mit der Abszisse abgeleitet werden (Abb. 43, 44). Bei einer Urinausscheidung von 0 ml/Min. muß auch die AAP-Aktivität/Min. 0 sein, das Wertepaar 0/0 sollte mithin Bestandteil der Regressionsgeraden sein, wenn die auf der Basis von Versuchsergebnissen mit Harnmengen viel größer als 0 ermittelten linearen Abhängigkeiten auch für Urinvolumina nahe 0 ml/Min. verifiziert werden sollen. Dieser Nachweis gelingt beispielsweise in Abb. 43, wo der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Abszisse bei -0,05 mU/Min. nur knapp neben dem Ursprung des Koordinatensystems aufzufinden ist. Auch drei der vier Regressionsgeraden imponieren durch ein ähnliches Verhalten (Abb. 44, Schnittpunkt der Graphen des Probanden O_1 bei -0,01 mU/Min., des Probanden O_2 bei -0,08 mU/Min. und des Probanden O_4 bei -0,01 mU/Min.), während eine Gerade in etwas größerer Distanz die Abszisse schneidet (Abb. 44, Schnittpunkt des Graphen des Probanden O_3 bei 0,38 mU/Min.). In diesem einen Fall (Proband O_3) ist wegen des hohen Regressionskoeffizienten von 0,998 an der Linearität der Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese für 0,29 ml/Min. < Urinvolumina/Zeit < 1,07 ml/Min. kein Zweifel möglich. Eine Schätzung der zu erwartenden AAP-Aktivitäten/Min. bei Urinvolumina/Zeit < 0,29 ml/Min. mit ebendieser Regressionsgeraden aus Abb. 44 erscheint aber nicht sinnvoll, da in diesem Bereich eine Neuerrechnung der Geradengleichung anhand von dafür nötigen Versuchsergebnissen relevant werden dürfte. Ganz ähnlich kann bei den Regressionsgeraden aus den Resultaten der Leerwert-

tage O_1 und O_2 (Abb. 47 und 48) argumentiert werden, deren Schnittpunkte mit der Abszisse ebenfalls nicht bei 0 mU/24 h liegen. Da Versuchsergebnisse aus dem Bereich Urinvolumen/Zeit < 582 ml/24 h fehlen (siehe Tab. 33 unter 4.4.2.), kann nur vermutet werden, daß der Steigungswinkel einer Geraden, erstellt mit Meßwerten aus dem oberen Grenzbereich des oligurischen Intervalls, kleiner wäre.

Zur Frage nach dem physiologischen Hintergrund der Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese werden von JÖSCH und DUBACH (84) folgende Möglichkeiten angeboten:

1. In Abhängigkeit vom Diuresezustand ändert sich die Permeabilität der Tubuluszellmembran für Enzyme
2. Das Ausmaß der physiologischen Zellmauserung ist durch Diurese und Antidiurese beeinflusst
3. Das Ausmaß der "Durchspülung" von einzelnen Tubuli ist abhängig vom Urindurchfluß, welcher von Diurese und Antidiurese bestimmt wird. So könnte ein Teil der Nephren durch Drosselung der Glomerulusfiltration bei Antidiurese einen Totraum darstellen
4. Im konzentrierten Urin bewirkt eine höhere Konzentration von Inhibitoren eine Aktivitätsverminderung
5. In Abhängigkeit vom Funktionszustand der Tubulusepithelien werden bei Antidiurese hemmende bzw. bei Diurese aktivierende Substanzen sezerniert

Die Punkte 4 und 5 konnten von den beiden Autoren für die LDH unwahrscheinlich gemacht werden.

5.2.2.3. Diskussion der Ergebnisse: Tagesprofil der Enzymurie (AAP)

5.2.2.3.1. - Kontrollgruppe

Deuten schon die Abbildungen 32 und 33 (siehe 4.2.1.) per se auf das Fehlen größerer Schwankungen bei der AAP-Ausscheidung

im Verlauf eines Tages bei Normalpersonen hin, so kann anhand der Tabellen 34 und 35 sichergestellt werden, daß diese geringen Abweichungen weitestgehend als Folge variierender Diurese zu interpretieren sein dürften. Die AAP-Elimination muß daher als eng verknüpft mit einer konstanten Zell- bzw. Zellmembranmauserung des proximalen Tubulus gewertet werden, die ihrerseits streng mit dem Diuresezustand korreliert ist. Dabei besitzen auch durch einen Flüssigkeitsstoß provozierte Extrema der Diurese keine nachhaltigen Auswirkungen auf die AAP-Ausscheidung nach Rückkehr der Urinproduktion in physiologische Bereiche. Die AAP-Aktivitäten bei gleichen Urinvolumina vor bzw. nach der Wasserbelastung zeichnen sich nämlich durch eine bemerkenswerte Übereinstimmung aus (siehe 4.4.1.).

5.2.2.3.2. - Cephacetrilversuchsgruppe

Ein Vergleich des konstanten Tagesprofils der AAP-Elimination bei der Kontrollgruppe (Abb. 32 und 33 unter 4.2.1.) mit den Graphen der Cephacetrilversuchsgruppe (Abb. 34-36 unter 4.2.2.1.) beweist statistisch signifikant für $2\alpha \leq 0,05$ den Einfluß des applizierten Antibiotikums auf die Enzymurie und damit den proximalen Tubulus. Diese Signifikanz ließ sich für die der Cephacetril-Infusion unmittelbar folgende zweistündige Sammelperiode errechnen, ein Umstand, der seine Erklärung in der Pharmakokinetik des Cephacetrils findet. So dauert die Serumhalbwertszeit nach i.v. Applikation 60 Minuten. Weiterhin gelang es DVORACEK nach einer Dosis von 1 g i.v. 2 Stunden später 60 % im Harn nachzuweisen (48).

War demnach der höchste Mittelwert der AAP-Aktivitäten dem 2 h-Intervall direkt nach der Cephacetrilapplikation zuzuordnen, so signalisierte auch das darauffolgende Intervall mit der dazugehörigen zweithöchsten noch aus den anderen Resultaten herausragenden mittleren AAP-Ausscheidung eine Einflußnahme der Testsubstanz auf die Enzymurie. Die beiden AAP-

Meßpunkte dieses vierstündigen Zeitraums im Anschluß an die Cephacetrilinfusion als von den übrigen Aktivitäten deutlich unterscheidbare stärkere Enzymausscheidungen (Abb. 36) sind nun keineswegs nur als Diureseeinfluß, sondern hauptsächlich als Medikamentenwirkung zu interpretieren. Der Beweis wird anhand der Abbildungen 49 und 50 geführt. Dort sind die Urinvolumina/Zeit gegen die AAP-Aktivitäten/Zeit aufgetragen, und zwar sowohl für die Mittelwerte der Cephacetrilversuchsgruppe als auch für die Probanden 224 und 229. Dabei wurden die Regressionsgeraden ohne die Wertepaare der beiden oben hervorgehobenen an die Cephacetrilapplikationen anschließenden zweistündigen Sammelperioden erstellt. Beachtenswert sind die hohen empirischen Korrelationskoeffizienten. Die reinen cephacetrilbedingten und vom Diureseeinfluß befreiten AAP-Aktivitätssteigerungen lassen sich leicht durch Ausmessung der Abstände beider Meßpunkte von der entsprechenden Regressionsgeraden auf Parallelen zur Abszisse abschätzen.

Bezieht man nun die herausgefilterten beiden Meßpunkte pro Gerade in die Korrelationsrechnungen mit ein, dann sinken die Korrelationskoeffizienten auf frappant niedrige Werte (Tab. 36). Dieser Umstand unterstreicht nochmals stark den Sonderstatus der in den Abbildungen 49 und 50 mit den Ziffern 2 und 4 überschriebenen Wertepaare.

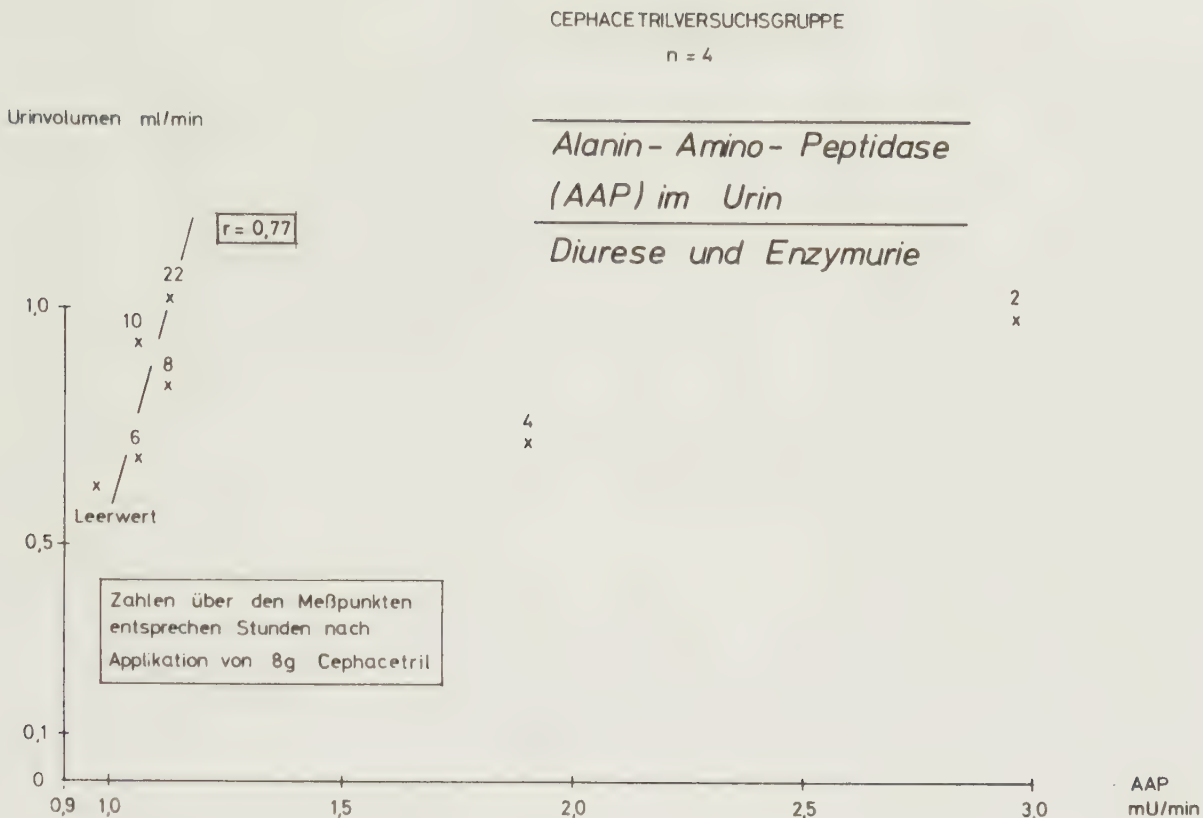


Abb. 49

- AAP im Urin:

Diurese und Enzymurie (Cephacetrilversuchsgruppe)

- Regressionsgerade aus den Mittelwerten (dabei keine Berücksichtigung der beiden Wertepaare 2 bzw. 4 Stunden nach Cephacetrilapplikation)

- Empirischer Korrelationskoeffizient (r)

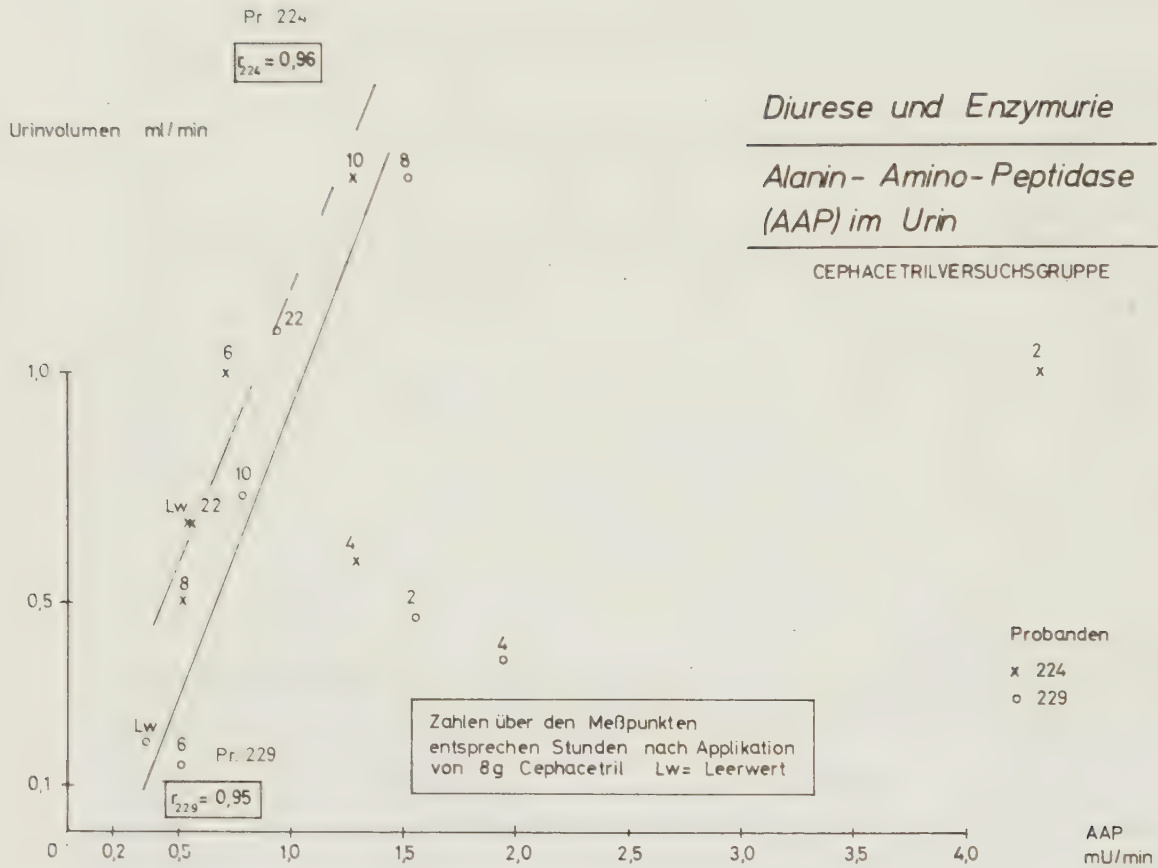


Abb. 50

- AAP im Urin:
Diurese und Enzymurie (Probanden 224 und 229)
- Individuelle Regressionsgeraden (dabei keine Berücksichtigung der beiden Wertepaare 2 bzw. 4 Stunden nach Cephacetrilapplikation)
- Empirische Korrelationskoeffizienten (r_{224} und r_{229})

Diurese und Enzymurie	Empirische Korrelationskoeffizienten	
	errechnet ohne Wertepaare 2 und 4 Stunden nach Cephacetrilapplikation	errechnet aus allen Wertepaaren (incl. 2 und 4 Stunden nach Cephacetrilapplikation)
Proband 224	0,96	0,34
Proband 229	0,95	0,33
Mittelwerte aller Pro- banden (n = 4)	0,77	0,36

Tabelle 36 - AAP im Urin:
Diurese und Enzymurie (Cephacetrilversuchsgruppe)
- Empirische Korrelationskoeffizienten

Proband Nr.	Urinvolumen [ml/Min.] im Sammelintervall						
	-2.-0.h	0.-2.h	2.-4.h	4.-6.h	6.-8.h	8.-10.h	10.-22.h
224	0,67	1,00	0,59	1,00	0,50	1,42	1,67
227	0,83	1,36	0,88	0,75	0,82	0,86	1,27
228	0,79	1,11	1,02	0,80	0,58	0,58	1,05
229	0,20	0,47	0,38	0,15	1,42	0,73	1,09
Mittelwerte aller Pro- banden (n = 4)	0,62	0,99	0,72	0,68	0,83	0,93	1,02

Tabelle 37

- Urinvolumina der Cephacetrilversuchsgruppe
- Sammelbeginn entspricht -2. Stunde
- Sammelende entspricht 22. Stunde
(siehe auch 3.2.2. und 4.2.2.1.)

In Tab. 37 sind die Urinvolumina aus den Sammelintervallen im einzelnen wiedergegeben. In Ergänzung durch Tab. 28 (unter 4.2.2.1.) sind hieraus alle für die Abb. 49 und 50 nötigen Daten ersichtlich.

Die Abbildungen 49 und 50 bieten allerdings nicht nur den Beweis für einen Cephacetrilbedingten AAP-Aktivitätsanstieg in einem vierstündigen Zeitraum post infusionem, sondern bestätigen gleichzeitig für alle übrigen Meßwerte die enge Korrelation zwischen Diurese und Enzymurie und damit die schon unter 5.2.2.3.1. nachgewiesene, nur diureseabhängige Konstanz der AAP-Ausscheidung im Verlauf von 24 Stunden bei der Kontrollgruppe.

Wie bereits unter 4.2.2.1. dargestellt, wurde der Proband 230 wegen der auffälligen Inhomogenität im Vergleich zu den übrigen Teilnehmern nicht in die Mittelwertberechnungen einbezogen. Seine AAP-Ausscheidung lag nämlich schon von vornherein wesentlich höher als die aller anderen Versuchspersonen (Tab. 28). In den ersten 120 Minuten nach der Cephacetrilinfusion resultierte in diesem Einzelfall ein Anstieg um 8,26 mU/Min. Der höchste vergleichbare Gipfel aus dem übrigen Kollektiv betrug dagegen nur 3,78 mU/Min. (Proband 224). Diese Resultate zwingen zu der Annahme, daß bei schon bestehender gesteigerter AAP-Ausscheidung im Leerwerturin unter Cephacetril mit einer überdurchschnittlichen Zunahme der Enzymelimination zu rechnen ist und eine Effektpotenzierung eintreten kann.

Mit dem immunologischen AAP-Nachweisverfahren konnten die kinetisch-photometrischen AAP-Bestimmungen weitestgehend bestätigt werden (siehe 4.2.2.2. und 4.2.2.3., Abb. 37 und 38). Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen beider Methoden können zum einen auf der Miterfassung nicht bürstensaumgebundener, in den Tubuluszellen lokalisierter AAP (siehe 5.2.2.) bei der photometrischen Messung beruhen, zum anderen sind auch auf Filterdefekte zurückführbare Verluste beim Einen-

gungsvorgang denkbar. Des weiteren sind die bei der Konzentrierung der einzelnen Urinserien erzielten, in gewissen Grenzen schwankenden Konzentrationsfaktoren in den Überlegungen zu berücksichtigen.

Erwähnenswert erscheint, daß der Anti-PM-Antikörper die hohe initiale AAP-Ausscheidung des Probanden 230 als zum Bürstensaum gehörig erkannte. Mit Hilfe der immunologischen Methode konnte auch in diesem Fall die Cephacetrilwirkung gut erfaßt werden. Da über den Depotlöchern 1 und 2 der Elektrophoreseplatte des Teilnehmers 230 (siehe 4.2.2.2. und Abb. 36) jeweils zwei Peaks zur Darstellung kamen, muß an AAP-Isoenzyme gedacht werden.

5.2.2.4. Diskussion der Ergebnisse: Neuntätige Versuchsreihen mit dreimaliger Antibiotikaapplikation (Tag 1 bis Tag 7)

5.2.2.4.1. Cephacetrilstudie

- Diskussion der kinetisch-photometrischen Ergebnisse

Abb. 12 unter 4.1.2.1.1. veranschaulicht den AAP-Aktivitätsanstieg unter der dreimaligen Applikation von 8 g Cephacetril an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Der AAP-Mittelwert des Tages 3 wurde nach dem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben als signifikant höher gegenüber dem Mittelwert der Leerwerttage O_1 und O_2 eingestuft.

Auch für die beiden anderen Infusionstage (Tag 1 und Tag 2) wies der Wilcoxon-Test signifikant stärkere AAP-Eliminationen im Vergleich zum Leerwerttagemittelwert aus. Aus statistischen Erwägungen (Überblähung des α -Fehlers) ist aber die multiple Anwendung dieses und auch anderer Testverfahren für die Beobachtung eines bestimmten Kollektivs während einer

Zeitreihe, d.h. hier an aufeinanderfolgenden Tagen, nicht statthaft. Daher wurde eine Signifikanzaussage nur für Tag 3, den Tag der letzten Cephacetrilinfusion, getroffen.

Nach Absetzen des Antibiotikums sank die mittlere AAP-Aktivität wieder ab, wobei die Resultate der Tage 4 und 5 noch nicht wieder auf der Ebene der Leerwerttage lagen. Am 4. Tag nach der letzten Medikamentengabe war das Ausgangsniveau wieder erreicht.

Die unter 4.1.2.1.1. durchgeführte Aufteilung der Versuchspersonen nach ihren AAP-Ausscheidungen in Responder und Non-Responder deutet auf die Unterschiede in der individuellen Sensibilität auf Pharmaka hin. Von 15 Probanden reagierten 9 mit deutlich vermehrten AAP-Ausscheidungen nach Cephacetril, während die Ergebnisse der restlichen 6 Teilnehmer kaum oder gar nicht an Auswirkungen der Testsubstanz denken lassen. Graphisch dargestellt ist diese Situation in Abb. 13.

Klinisch relevant kann demnach gerade das Auftreten von stärkeren Enzymeliminationen im Einzelfall sein. Proband 208 mit 7126 mU AAP/24 h nach der ersten Cephacetrilinfusion soll dafür als Beispiel angesprochen werden. Eine Bestimmung der individuellen Empfindlichkeit mittels AAP-Nachweis vermag daher besonders vor und evtl. auch im Verlauf längerfristiger Applikationen und hoher Dosierung sinnvoll erscheinen.

Die Interpretation der AAP-Aktivitäten im Harn ist nach den Erkenntnissen über die Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese immer nur im Hinblick auf die ausgeschiedenen Urinvolumina korrekt. Aus diesen Erwägungen wurde mit allen Urinvolumina und AAP-Resultaten der Leerwerttage O_1 und O_2 der Respondergruppe eine Regressions- und Korrelationsrechnung durchgeführt. In Abb. 51 sind die Urinvolumina/24 h gegen die AAP-Aktivitäten/24 h aufgetragen. Für den empirischen Korrelationskoeffizienten fand sich der hohe Wert 0,83.

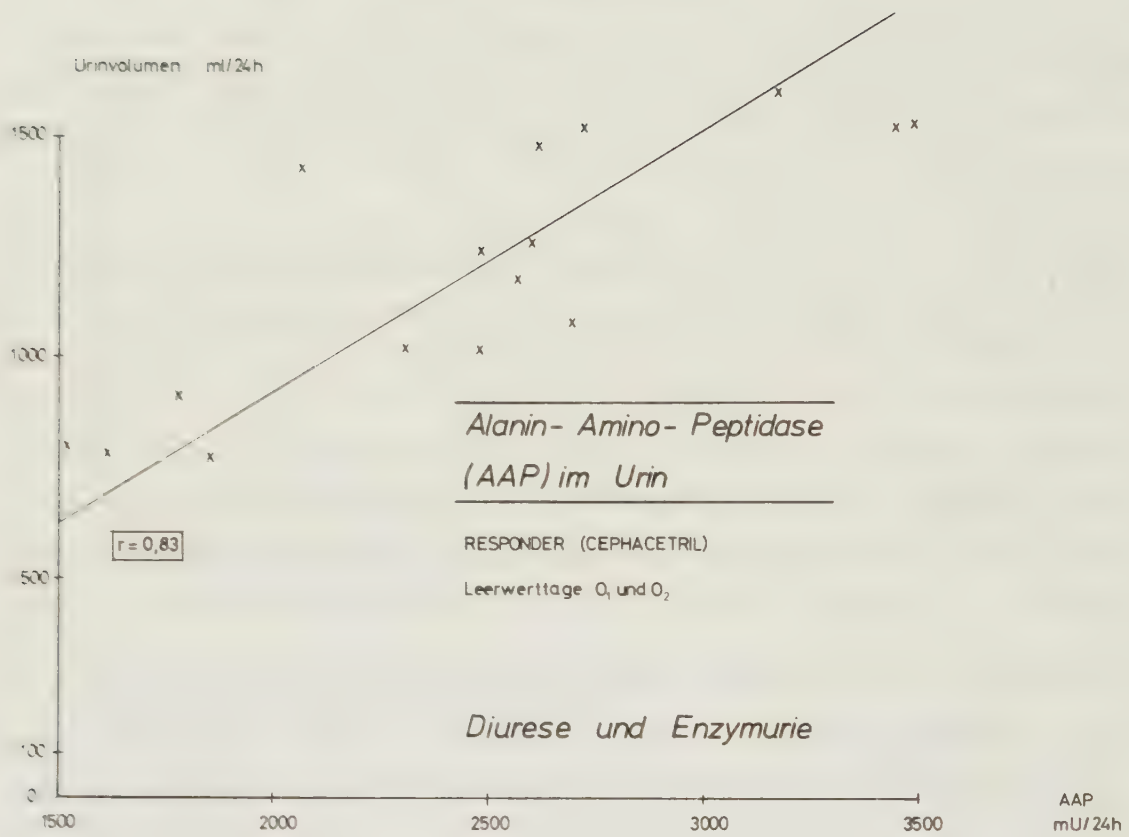


Abb. 51

- AAP im Urin:

Diurese und Enzymurie (Responder, $n = 9$)

- Empirischer Korrelationskoeffizient (r)

Die Regressionsgerade ist durch die folgende Gleichung charakterisiert:

$$\text{AAP-Aktivität [mU/24 h]} = 1,6751 \times \text{Urinvolumen [ml/24 h]} + 456,53$$

Da gerade an den Infusionstagen größere Harndurchschnittsvolumina auftraten (siehe Tab. 17), kann anhand der obigen mathematischen Beziehung der diuresebedingte Anteil am AAP-Anstieg abgeschätzt und von der gemessenen Aktivität/24 h subtrahiert werden. Auf diese Weise erhält man die vom Diuresefluß befreite nur cephacetrilbedingte mittlere AAP-Aktivitätssteigerung.

Wird entsprechend das zum höchsten Mittelwert der AAP-Ausscheidungen der Respondergruppe (Tag 2 mit 4458,4 mU/24 h) gehörige Urinvolumen von 1655,1 ml/24 h in die Geradengleichung eingesetzt, dann ergibt sich eine fiktive AAP-Aktivität von 3229 mU/24 h. Zwischen tatsächlich gemessener AAP-Elimination (4458 mU/24 h) und der durch Diuresesteigerung erklärbaren Aktivität (3229 mU/24 h) liegt also eine Spanne von 1229 mU/24 h. Diese Differenz repräsentiert in Annäherung die reine Cephacetrilwirkung. Analog kann auch mit dem höchsten Einzelresultat der Respondergruppe, nämlich 7126 mU/24 h bei Proband 208 am Tag 1 (siehe Tab. 17), verfahren werden. Das korrespondierende Urinvolumen von 1620 ml/24 h würde lediglich eine Aktivität von 3170 mU/24 h rechtfertigen. 3956 mU/24 h wäre also der Schätzwert für die Cephacetrilwirkung.

Wie bei der Respondergruppe fielen auch die höchsten AAP-Mittelwerte aller Cephacetrilprobanden (Tab. 16) mit den höchsten Durchschnittsurinvolumina zusammen. Um ebenfalls wieder Schlüsse auf die reine Medikamentenwirkung ziehen zu können, wurde die unter 4.4.2. dargestellte, aus allen AAP-Resultaten und Urinvolumina berechnete Regressionsgerade verwendet. Ihre Gleichung lautet:

$$\text{AAP-Aktivität [mU/24 h]} = \\ 0,9 \times \text{Urinvolumen [ml/24 h]} + 1088,50$$

Setzt man hier das mit dem maximalen AAP-Mittelwert (3544 mU/24 h) verknüpfte mittlere Urinvolumen von 1433 ml/24 h ein, dann resultieren daraus 2450 mU/24 h als diuresebedingte AAP-Aktivität. 1094 mU/24 h müssen nach dieser Methode dem Cephacetril zugeschrieben werden.

Die Problematik der Abschätzung des Diureseeinflusses auf die Enzymurie mittels Geradengleichungen wurde schon in Kapitel 5.2.2.2. abgehandelt. Dort kam auch zur Darstellung, daß nur aus Wertepaaren bei kleinen Urinvolumina/Zeit (Ordinate) und dazugehörigen AAP-Aktivitäten/Zeit (Abszisse) berechnete Regressionsgeraden kleinere Steigungswinkel haben müssen als solche Graphen, die nur aus Wertepaaren bei hohen Urinvolumina/Zeit erstellt wurden. Dieser Umstand kann in dem Moment relevant werden, wenn zu einem unphysiologisch hohen Urinvolumen/Zeit die korrespondierende diuresebedingte AAP-Aktivität/Zeit aus einer anhand von physiologischen Harnmengen ermittelten Regressionsgeraden abgelesen werden soll. Die so geschätzte Enzymaktivität liegt nämlich höher als der wahre Wert, da in Bereichen starker Diurese eine zusätzliche Ausscheidungssteigerung/Zeit um ein definiertes Volumen mit einem geringeren AAP-Anstieg/Zeit verbunden ist, als dies auf einer niedrigeren Diuresestufe der Fall wäre. Soll also eine vom Diureseeinfluß befreite, lediglich arzneimittelbedingte Aktivitätserhöhung ausgerechnet werden, dann würde diese im obigen Beispiel zu niedrig ausfallen.

Mutatis mutandis ermöglichen es die Regressionsgeraden auch, AAP-Leerwertaktivitäten, die aus hohen Urinvolumina/Zeit bestimmt wurden, im Bedarfsfall auf niedrigere Harnausscheidungen/Zeit und damit zu neuen kleineren AAP-Leerwerten umzurechnen. Dieser Schritt kann nötig werden, wenn zufällig, z.B. am Tage einer Antibiotikainfusion, ein im Vergleich zu

den Harnvolumina der Leerwertbestimmungen viel kleineres Diuresevolumen auftritt. Auf diese Weise wird eine falsch-niedrige Einschätzung der dem Medikament zuzuschreibenden AAP-Aktivitätszunahme vermieden.

- Diskussion der immunologischen Ergebnisse

Die unter 4.1.2.4. und 4.1.2.5. aufgezeigten immunologischen Resultate beweisen in 6 Fällen das Auftreten von AAP aus dem Bürstensaum des proximalen Tubulus unter Cephacetril. Die Tatsachen, daß diese 6 Probanden ausnahmslos der nach der kinetisch-photometrischen Ergebnissen aufgestellten Respondergruppe angehörten und daß bei keinem Non-Responder AAP immunologisch darstellbar war, demonstrieren die gute Übereinstimmung beider Nachweismethoden. Die Ergebnisse aus beiden Verfahren können sich zum größten Teil gegenseitig als Beweis dienen. Gleichzeitig untermauern auch die immunologischen Resultate das Bestehen individueller Unterschiede in der Reaktion auf Cephacetril.

Da bei keinem Versuchsteilnehmer an den Leerwerttagen AAP immunologisch nachweisbar war, muß das Auftreten von Präzipitaten immer als Ausdruck einer Reaktion des proximalen Tubulus auf ihn treffende Noxen interpretiert werden. Dabei können schon relativ geringe Schädigungen erfaßt werden.

(Zur Frage, wie die unter 4.2.2.3. beschriebenen Diskrepanzen zwischen immunologischen und kinetischen Ergebnissen prinzipiell erklärbar sind, wurde schon unter 5.2.2.3.2. Stellung genommen).

Die Kreatinin-Clearance blieb unter dreimaliger Applikation von 8 g Cephacetril völlig unbeeinflusst. Mit dem Absetzen des Medikamentes normalisierten sich die Enzymeliminationen spontan. Das Ausgangsniveau wurde auch nachfolgend nicht unterschritten. Proband 216 bot als einziger bei der immuno-

logischen Auswertung Präzipitate auch noch an den Versuchstagen 4, 5 und 7. Diese Peaks waren aber, verglichen mit denen anderer Responder, wesentlich farbschwächer und dürften gerade an der unteren Nachweisgrenze der Methode liegen.

Vergleichsweise dazu konnte bei Therapie mit Zytostatika ein kontinuierlicher Anstieg der Enzymelimination über mehrere Tage nach Absetzen des Medikamentes beobachtet werden. Die Enzymaktivitäten im 24 h-Harn lagen hierbei auch um eine Zehnerpotenz höher (112,145).

Diese Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß Cephacetril in der Wirkung auf den proximalen Tubulus nicht indifferent ist. Irreversible Schädigungen des proximalen Tubulus sind nach der hohen Dosierung von 8,0 g als Einzelgabe an drei aufeinanderfolgenden Tagen nicht aufgetreten. Unter der Voraussetzung einer normalen Nierenfunktion ist Cephacetril auch in hoher Dosierung als wenig nierenwirksam anzusehen.

5.2.2.4.2. Cephalotin- und Cephazolinstudie

Die dreimalige Applikation von 8 g Cephalotin bzw. 6 g Cephazolin bei jeweils 5 Probanden löste keine AAP-Aktivitätsanstiege in den 24 h-Sammelurinen aus (Tabellen 18 und 19, Abbildungen 15 und 16). In völliger Übereinstimmung mit diesen kinetisch bestimmten Ergebnissen verliefen alle immunologischen AAP-Darstellungsversuche negativ (siehe 4.4.2.3., Abbildungen 29 und 30). Auch die Resultate der Kreatinin-Clearance bewegten sich streng im Normalbereich. Zwei Versuchspersonen hatten außer an den Experimenten mit Cephazolin einige Monate zuvor schon an der Cephacetrilstudie teilgenommen. Dort trugen sie die Teilnehmernummern 200 bzw. 201, während ihnen für die Cephazolinuntersuchung die Ziffern 226 bzw. 225 zugeteilt wurden. Obwohl Proband 201 unter Cephacetril deutlich mit gesteigerter AAP-Ausscheidung reagiert

hatte (Abb. 14) und er somit als Responder eingeteilt wurde, war nach Cephazolin ein AAP-Aktivitätsanstieg nicht ersichtlich (siehe Tab. 18, Nr. 225). Versuchsteilnehmer 200 zeigte dagegen weder Reaktionen auf Cephacetril noch als Nr. 226 auf Cephazolin (siehe 4.1.2.4.). Die hier getroffenen Feststellungen basieren zwar nur auf der Auswertung eines kleinen Probandenkollektivs, doch weisen alle bisherigen Resultate einer erneuten Erprobung von Cephazolin und Cephalotin (99) in genau die gleiche Richtung.

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Erkenntnisse aus verschiedenen Tierversuchen (siehe auch unter 1.), wenn auch die Übertragbarkeit auf den Menschen schon aufgrund der z.T. extremen verabreichten Antibiotikadosen nur bedingt möglich ist.

FROESE fand z.B. bei der Ratte unter der Wirkung von 500 mg Cephalotin/kg KG noch keine Unterschiede der Enzymaktivitäten (AP, AAP und gamma-GT) im 24 h-Urin, verglichen mit entsprechenden Kontrollen. Erst viel höhere Cephalotinmengen (1250 bzw. 2500 mg/kg KG) führten bei der AP und der gamma-GT zu einer hochsignifikanten Zunahme der Enzymurie. Obwohl auch die Werte für die AAP im Urin zunahmen, unterschieden sie sich voneinander erst nach der Höchstdosis signifikant. Der elektronenmikroskopische Befund des proximalen Tubulus 2 Stunden nach 2500 mg Cephalotin/kg KG zeigte neben einem intakten Bürstensaum mitochondriale Veränderungen (59).

Ebenfalls an Ratten stellten HARRISON et al. Experimente an. Nach 60-120 mg Gentamycin/kg KG über 5 Tage erkannten sie Nekrosen des proximalen Tubulus. Danach applizierten die Autoren über 4 Wochen 20 mg Gentamycin/kg KG und Tag, verbunden mit 500 mg Cephaloridin bzw. Cephalotin bzw. Cephazolin/kg KG und Tag. Keine dieser Kombinationen erzeugte mehr Einschränkungen der Nierenfunktion als Gentamycin allein. Cephalotin oder Cephazolin in einer Dosierung

von 1100 mg/kg KG und Tag über 4 Wochen vermochte ohne Zugabe von Gentamycin bei keiner Ratte eine Nierenschädigung auszulösen. Cephaloridin dagegen führte zum Teil zu Nekrosen des proximalen Tubulus mit Ablösung des Bürstensaums (67).

Auch DELLINGER et al. sahen nach Cephalotinmengen von täglich 800 mg/kg KG über 10 Tage bei Ratten keine Nierenschädigungen, wohingegen Gentamycin schon in viel geringerer Dosierung (6-50 mg/kg KG und Tag) Veränderungen hauptsächlich an Zellen des proximalen Tubulus auslöste. Die gleichzeitige Verabreichung von Cephalotin zum Gentamycin senkte die Nekroserate signifikant (42).

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Tierversuche mit den in der vorliegenden Untersuchung beim Menschen gewonnenen Resultaten, so drängt sich der Schluß auf, daß Cephalotin bzw. Cephazolin kein besonders großes nephrotoxisches Potential zu besitzen scheinen. Gleichzeitig heben die histologischen Befunde in den Tierexperimenten die Bedeutung des proximalen Tubulus als Manifestationsort von Noxen hervor. Da die AAP dort als ein Leitenzym des Bürstensaums lokalisiert ist, muß ihrem Nachweis im Urin große Aussagekraft eingeräumt werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde 8 g Cephacetril bzw. 8 g Cephalotin bzw. 6 g Cephazolin täglich als Kurzinfusion an drei aufeinanderfolgenden Tagen nierengesunden Probanden appliziert. Dabei wurde Cephacetril bei 16, Cephazolin und Cephalotin bei jeweils 5 Versuchspersonen eingesetzt. Im 24 h-Nativharn wurde die Aktivität der Alanin-Amino-Peptidase (AAP) gemessen. Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase (AP sowie der gamma-Glutamyltransferase (gamma-GT) erfolgte in den Konzentraten dieser Eintagesurinprotionen. Außerdem wurde versucht, die AAP mit Hilfe eines Anti-Bürstensaum-Antiserums in den Harnkonzentraten immunologisch nachzuweisen.

Die drei aufgeführten Enzyme sind sogenannten Leitenzyme des proximalen Tubulus und daher zur Erkennung toxischer Schäden, welche sich überwiegend am tubulären System manifestieren, geeignet. Anhand der im Rahmen dieser Untersuchungen gewonnenen Leerwerte konnte aufgezeigt werden, daß sich die im Nativharn gemessenen Aktivitäten der AAP bei Normalpersonen im Bereich zwischen 1000-3500 mU/24 h bewegten und statistisch normalverteilt waren. Für die aus den Harnkonzentraten ermittelten AP-Aktivitäten ließ sich das Modell einer Lognormalverteilung verifizieren; die Resultate der gamma-GT-Bestimmungen waren weder normal- noch lognormalverteilt. AAP war mit der immunologischen Methode an keinem der beiden Leerwerttage nachweisbar.

Im Verlauf der Untersuchungen kristallisierte sich der besondere Wert der kinetisch-photometrischen AAP-Messung und ihrer immunologischen Darstellung heraus. So kam es bei einem Teil der Probanden unter Cephacetril zu einem Anstieg der AAP-Aktivitäten im Harn. In 6 dieser 9 Fälle gelang es auch, den immunologischen Nachweis für die Elimination dieses Mem-

branenzyms zu erbringen. Nach Absetzen der Medikation normalisierten sich diese Werte spontan. Obwohl also nach den hier angewandten Parametern das Cephacetril in seiner Wirkung auf den proximalen Tubulus als nicht indifferent anzusehen ist, blieben die Enzymwerte in einem Niveau weit unter der Grenze zur Nephrotoxizität.

Unter den Applikationen von Cephalotin bzw. Cephazolin traten keine AAP-Aktivitätssteigerungen auf. Korrespondierend dazu verliefen alle immunologischen AAP-Darstellungsversuche negativ.

Weiterhin wurde die AAP-Urinausscheidung im Verlauf von 24 Stunden bei 4 Normalpersonen beobachtet. Dabei war besonders die enge lineare Korrelation zwischen Diuresevolumen und AAP-Elimination auffällig. Die sowieso nur geringfügig aufgetretenen Aktivitätsschwankungen im Ablauf eines Tages konnten nahezu vollständig auf entsprechende Änderungen des Diuresezustandes zurückgeführt werden, was auf eine überaus konstante, nur vom produzierten Harnvolumen modifizierte AAP-Elimination in den Urin hindeutet.

In Analogie wurde die AAP-Urinausscheidung im Tagesablauf nach einmaligen Infusionen von je 8 g Cephacetril bei 5 Probanden untersucht. Als Reaktionen auf das Cephacetril manifestierten sich deutliche AAP-Aktivitätsanstiege, die aber lediglich kurzfristiger Natur waren. Dieses Verhalten ließ sich in 3 der 5 Fälle auch immunologisch bestätigen. Bei einem Versuchsteilnehmer lag die AAP-Ausscheidung schon im Leerwerturin frappant höher als bei den übrigen Probanden. Unter Cephacetril erfolgte nun ein unverhältnismäßig großer AAP-Aktivitätsanstieg. Dieses Verhalten gibt Anlaß zur Annahme einer Effektpotenzierung bei schon im vorhinein gesteigerter AAP-Elimination.

Ein weiterer Akzent wurde in der vorliegenden Arbeit auf das Problem der Abhängigkeit der Enzymurie von der Diurese gesetzt. In diesem Zusammenhang wurde eine Möglichkeit zur Berechnung ausschließlich arzneimittelbedingter und vom Diureseeinfluß befreiter AAP-Aktivitätssteigerungen aufgezeigt und diskutiert.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Able, R., Jr., Boyle, G.L., Leopold, I.H., Furman, N.:
Intraocular penetration of cefazolin-sodium in rabbits
Paper presented at the Eight International Congress
of Chemotherapy, Athens, Greece, September 8-14,
(1973)
2. Abraham, E.P.:
Biochemistry of some peptide and steroid antibiotics
John Willey and Sons, Inc., New York, p. 34 (1957)
3. Abraham, E.P., Olson, B.H., Newton, G.G.F., Schuurmans,
D.M., Schenk, J.R., Fischer, M.W., Hargic, M.P.,
Fusari, S.A.:
Identity of cephalosporin N and synematin B
Nature (London), 176, 551 (1955)
4. Alexander, J.W., Sykes, N.S., Mitchell, M.M., Fischer,
M.W.:
Concentration of selected intravenously administered
antibiotics in experimental surgical wounds
J. Trauma, 13, 423 (1973)
5. Allen, J.L., Rampone, J.F., Wheelless, C.R.:
Use of the prophylactic antibiotic in elective
major gynecologic operations
Obstet. Gynec. 39, 218 (1972)
6. Alsen, H.:
Pharmakokinetik eines neuen Cephalosporin-Antibio-
tikums bei Nierenfunktionseinschränkung
Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin
(1973)
7. Amador, E., Zimmerman, T.S., Wacker, W.E.C.:
Urinary alkaline phosphatase activity
I. Elevated urinary LDH and alkaline phosphatase
activities for the diagnosis of renal adenocarci-
nomas
J. Am. Med. Ass., 185, 769-775 (1963)
8. Amador, E., Zimmerman, T.S., Wacker, W.E.C.:
Urinary alkaline phosphatase activity
II. An analytical validation of an assay method
J. Am. Med. Ass. 185, 953-957 (1963)
9. Arndt, J.:
Untersuchungen über nephrotoxische Nebenwirkungen
von Cephalotin und Gentamycin
Inaugural-Dissertation, Frankfurt am Main,
Fachbereich Humanmedizin (1971)

10. Asscher, A.W., Sussman, M., Waters, W.E., Davis, R.H.,
Chick, S.:
Urine as a medium for bacterial growth
Lancet II, 1037-1041 (1966)
11. Asscher, A.W., Sussman, M., Weiser, R.:
Bacterial growth in human urine
In: Urinary tract infection. Hrsg. v. F. O'Grady
und W. Brumfitt.
London, Oxford University Press, S. 3-13 (1968)
12. Bahr, M., Wilkinson, J.H.:
Urea as a selective inhibitor of human tissue
alkaline phosphatases.
Clin. Ch m. Acta 17, 367-370 (1967)
13. Bahre, G., Kley, R., Brass, H.:
Die Aktivitäten der Gamma-glutamyl-Transpepti-
dase im 24-Stunden-Urin bei verschiedenen
Nephropathien
Dtsch. Med. Wschr. 99, 2214-2218 (1974)
14. Benner, E.J.:
The use and abuse of antibiotics
J. Bone and Joint Surg., 49, 977 (1967)
15. Benner, J.:
Renal damage associated with prolonged
administration of ampicillin, cephalexin and
cephalotin
Antimicrob. Agents Chemother., 417-420 (1969)
16. Bennet, A.H., Morse, F.P.:
The use of cefazolin in genito-urinary infections
loc. cit. 1
17. Bernard, H.R., Clark, W.R., Leather, R.P., Gray, V.C.:
Chemoprophylaxis of postoperative infection:
Cephalexin versus penicillin G
Arch. Surg., 99, 388 (1969)
18. Birkhead, H.A., Briggs, G.B., Saunders, L.Z.:
Toxicology of cefazolin in animals
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 379-381
(Oct. 1973)
19. Birkett, D.J., Conyers, R.A.J., Neale, F.C., Posen, S.,
Brudenele-Woods, J.:
Action of urea on human alkaline phosphatase
with a description of some automated techniques
for the study of enzyme kinetics
Arch. Biochem., 121, 470-478 (1967)

20. Bobrow, S.N., Jaffe, E., Young, R.C.:
Anuria and acute tubular necrosis associated
with gentamicin and cephalothin
JAMA, Vol. 222, No. 12, 1546-1547 (Dec. 18, 1972)
21. Brogard, J.M., Dorner, M., Haegele, P., Meyer, C.,
Lavillaureix, J.:
Diffusion de la céfazoline dans le tractus
biliaire
Nouv. Presse Med. 3, 24-28 (1974)
22. Brogard, J.M., Haegele, P., Dorner, M., Lavillaureix, J.:
Biliary excretion of a new semisynthetic
cephalosporin, cephacetrile
Antimicr. Agents Chemother., 3, 19-23 (1973)
23. Brogard, J.M., Kuntzmann, F., Lavillaureix, J.:
Activité antibactérienne, pharmacocinétique
et utilisation clinique d'un nouvel antibiotique
céphalosporanique, la céphacétrile
Journ. Méd. Strasbourg, 4, 455-464 (1973)
24. Brogard, J.M., Kuntzmann, F., Lavillaureix, J.:
Distribution sanguine, élimination rénale et
biliaire d'une nouvelle céphalosporine, la
céphacétrile (Ciba 36278-Ba)
Schweiz. med. Wschr., 103, 110-114 (1973)
25. Brogard, J.M., Ruscher, H., Frankhauser, J.,
Kuntzmann, F., Lavillaureix, J.:
Evolution des taux sériques d'une nouvelle
céphalosporine, la céphacétrile, en fonction
des capacités d'élimination rénale
Arzneim.-Forsch. (Drug.Res.), 24, Nr. 9 b,
1528-1533 (1974)
26. Brotzu, G.:
Studies of a new mycete
Lavori dell Istituto di Igiene di Calgari,
p. 1 (1948)
27. Brown, J.D., Mathies, A.W., Ivler, D., Warren, W.S.,
Leedom, J.M.:
Variable results of cephalotin therapy for
meningococcal meningitis
Antimicr. Agents Chemother., 432-440 (1969)
28. Burton, J.R., Lichtenstein, N.S., Colvin, R.B.,
Hyslop, N.E.:
Acute renal failure during cephalothin therapy
JAMA, Vol. 229, No. 6, 679-682 (Aug. 5, 1974)

29. Butterworth, P.J., Moss, D.W.:
The effect of urea on human alkaline
phosphatase preparations.
Enzymologia, 32, 269-271 (1967)
30. Butterworth, P.J., Moss, D.W., Pitkainen, E.,
Pringle, A.:
Patterns of urinary excretion of alkaline
phosphatase in acute renal failure
Clin. Chim. Acta, 11, 212-219 (1965)
31. Butterworth, P.J., Moss, D.W., Pitkainen, E.,
Pringle, A.:
Some characteristics of alkaline phosphatase
in human urine
Clin. Chim. Acta, 11, 220-226 (1965)
32. Cabanillas, F., Burgos, R.C., Rodriguez, R.C.,
Baldizón, C.:
Nephrotoxicity of combined cephalothin-
gentamicin regimen
Arch. Intern. Med., Vol. 135, 850-852
(June 1975)
33. Caldwell, J.K.:
Actinomycosis treated with cephalotin
Southern Med., 64, 987 (1971)
34. Carling, C.P., Idelson, B.A., Casano, A.A.,
Alexander, E.A., McCabe, W.R.:
Nephrotoxicity associated with cephalothin
administration
Arch. Intern. Med., Vol. 135, 797-801
(June 1975)
35. Ciba, Grünenthal:
Celospor, das neue ausgereifte Cephalosporin
36. Cho (Chang), N., Ito, T., Saito, T., Fukada, M.:
Studies on cefazolin in obstetrics and gynecology
with special reference to its clinical pharma-
cology in the neonate
In Hejzlar, M. et al. (Eds.): Advances in anti-
microbial and antineoplastic chemotherapy.
Proc. VIIth Int. Congr. Chemother., Prague 1971
p. 1187 (Urban u. Schwarzenberg 1972)
37. Cox., C.E.:
Cefazolin therapy of urinary tract infections
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 397 (1973)

38. Cox, C.E., Montgomery, W.G.:
Cephalosporin therapy of urinary tract
infections
Postgrad. Med. J., 47 (Supplement),
107-118 (1971)
39. Craig, W.A., Welling, P.G., Jackson, T.C.,
Kunin, C.M.:
Pharmacology of cefazolin and other cephalosporins in patients with renal insufficiency
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 347
(Oct. 1973)
40. Crenshaw, C.A., Terrell, C.:
Cephalotin as a preventive antibiotic for
traumatic wound infection
Aorn. J., 14, 53 (1971)
41. Crook, J.N., Cotlar, A.M., Bornside, G.H., Cohn, I.:
Intraperitoneal cephalothin in the treatment
of experimental appendiceal peritonitis
Surg., 34, 736 (1968)
42. Dellinger, P., Murphy, T., Pinn, V., Barza, M.,
Weinstein, L.:
Protective effect of cephalotin against
gentamycin-induced nephrotoxicity in rats
Antimicrob. Agents Chemother., 9, 172-178
(Jan. 1976)
43. Dettli, L.:
Eliminationskinetik und Dosierung von Medikamenten bei Patienten mit Niereninsuffizienz
Triangel, Band 14, Nr. 3/4 (1976)
44. Dettli, L., Spring, P., Rebner, H.:
The elimination of a new cephalosporin analogue
in patients with normal and impaired kidney
function
loc. cit. 36, p. 57-58
45. Dettli, L., Spring, P., Ryter, S.:
Multiple dose kinetics and drug dosage in
patients with kidney disease
Acta pharmacol., 29 (Supplement 3),
211-224 (1971)
46. Diezi, J.:
Renale Toxizität der Antibiotika
Münch. med. Wschr., 115, Nr. 39 (1973)

47. Documenta Geigy:
Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage, Basel (1968)
48. Dvoracek, K., Modr, Z., Schmidt, O., Necaskova, A.:
Contribution to the pharmacokinetics of a
new cephalosporin derivative
loc. cit. 36, p. 9-11
49. Eckolt, R., Bürgi, H., Regli, J.:
A comparative trial of ampicillin and Ciba
36'278-Ba in acute exacerbations of chronic
bronchitis
loc. cit. 36, p. 1245
50. Ehresmann, U., Freick, H.:
Antibiotikakombination: Cephalotin-Gentamycin
als Initialbehandlung schwerer akuter Infektio-
nen
Therapiewoche, 20, 45, 2919 (1970)
51. Eli-Lilly GmbH.:
Cephalotin, Lilly; Breitspektrum-Antibiotikum
52. Eli-Lilly GmbH.:
Elzogram, Lilly; Breitspektrum-Antibiotikum
53. Falco, F.G., Smith, H.M., Arcieri, G.M.:
Nephrotoxicity of aminoglycosids and gentamycin
J. Infect. Dis., 119, 406-409 (1969)
54. Falge, P., Hofstetter, A., Staehler, G.:
Kombinierte Cephalotin-Gentamycin-Behandlung
schwerster urologischer Infektionen:
Med. Welt, 24, Heft 10, 368-371 (1973)
55. Fanning, W.L., Gump, D., Jick, H.:
Gentamicin- and cephalothin-associated
raises in blood urea nitrogen
Antimicrob. Agents Chemother., 80-82
(July 1976)
56. Faria, M.C.:
Clinical trial of cefazolin in children with
bronchopneumonia
J. Int. Med. Res., 1, 159 (1973)
57. Fillastre, J.P., Laumonier, R., Humbert, G.,
Dubois, D., Metayer, J., Delpech, A.:
Insuffisances rénales aiguës après
administration de céphalotine et de gentamycine
Nouv. Presse méd., 2, 444 (1973)

58. Fillastre, J.P., Laumonier, R., Humbert, G.,
Dubois, D., Metayer, J., Delpech, A., Leroy, J.,
Robert, M.:
Acute renal failure associated with combined
gentamicin and cephalothin therapy
Brit. Med. J., 2, 396-397 (1973)
59. Froese, P.:
Untersuchungen zum Enzymverhalten der Rattennie-
re und Blutzellen des Menschen unter Einwirkung
von Pharmaka
Habilitationsschrift in Vorbereitung, Berlin
60. Gold, J.A., McKee, J.J., Ziv, D.S.:
Experience with cefazolin: An overall summary
of pharmacologic and clinical trials in man
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 415
(Oct. 1973)
61. Gonzalez-Lavin, L., Blanco, G., Nichols, H.T.:
Sodium cephalothin in open-heart surgery
(a preliminary report)
Clin. Med., 77, 31 (1970)
62. Greenberg, W.V., Temple, T.F.:
Paradoxical rise in urinary alkaline phosphatase activity during storage. Indirect evidence for a labile inhibitor
J. clin. Pathol., 48, 133, 138 (1967)
63. Griffith, R.S.:
Cefazolin
Advances in Clinical Pharmacology, Vol. 8
Cephalosporin-Symposium 1973
Urban und Schwarzenberg (1974)
64. Griffith, R.S.:
Historical background, to development of
cephalosporin antibiotics
Int. J. clin. Pharmacol., Oracef-Symposion
Sonderheft (1969)
65. Griffith, R.S., Black, H.R.:
Blood, urine and tissue concentration of the
cephalosporin antibiotics in normal subjects
Postgrad. Med. J., 47, 32 (1970)
66. Griffith, R.S., Black, H.R.:
Cephalothin - a new antibiotic. Preliminary
clinical and laboratory studies
J. Amer. med. Ass., 189, 823 (1964)

67. Harrison, W.O., Silverblatt, F.J., Turck, M.:
Gentamycin nephrotoxicity: Failure of three
cephalosporins to potentiate injury in rats
Antimicrob. Agents Chemother., 8, 202-215
(Aug. 1975)
68. Hautmann, R.:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Nephro-
toxizität der Kombination Cephalotin-Gentamycin
Cephalosporin-Symposium 17.12.73,
Urban und Schwarzenberg, S. 61-67 (1974)
69. Helm, E.B., Shah, P.M., Stille, W.:
Untersuchungen zur antibakteriellen Aktivität
von Cefazolin
Infection, 2, (Supplement 1) (1974)
70. Hewitt, W.L.:
The cephalosporins - 1973
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 312-318
(Oct. 1973)
71. Hierholzer, G., Linzenmeier, G., Kleining, R.,
Hörster, G.:
Vergleichende Untersuchungen über die Konzentra-
tion von Cephacetril (Celospor) und Cephalothin
im normalen und chronisch entzündetem Knochen-
gewebe
Arzneimittel-Forsch. (Drug. Res.), 24, Nr. 9b
(1974)
72. Hilliard, S.D., O'Donnell, J.F., Schenker, S.:
On the nature of the inhibitor of urinary
alkaline phosphatase
Clin. Chim. Acta, 11, 570-574 (1965)
73. Hirsch, H.A.:
Antibiotikakinetik bei Mutter und Kind
Schweiz. Rundschau Med., 62, 504 (1973)
74. Hirsch, H.A., Herbst, S., Lang, R., Dettli, L.,
Gabliger, A.:
Transfer of a new cephalosporin antibiotic
to the fetus and the amniotic fluid during
a continuous infusion (steady state) and
repeated single intravenous injections to
the mother
Arch. Gynäk., 216, 1-14 (1974)

75. Hodges, G.R., Saslaw, S.:
Experiences with cefazolin: A new cephalo-
sporin antibiotic
Am. J. Med. Sci., 265, 23 (1973)
76. Hodges, G.R., Scholand, J.F., Perkins, R.L.:
Cephacetrile: Clinical evaluation in 27
patients
Antimicr. Agents Chemother., 3, 228-234 (1973)
77. Hodson, A.H., Holloway, W.J.:
Cephacetrile - a new cephalosporin antibiotic
Int. J. clin. Pharmacol. Ther., 7, 89-94
(1973)
78. Höffler, D., Koeppe, P., Fuchs, E., Fiegel, D.:
Cephalotin-Plasmaspiegel bei normaler und
eingeschränkter Nierenfunktion
Int. Ztschr. f. Klin. Pharmakol., Ther.
u. Toxikol., 4, 32 (1972)
79. Hofstetter, A.:
Erfahrungen mit der kombinierten Cephalotin-
Gentamycin-Therapie bei schwersten urologi-
schen Infektionen
loc. cit. 63, p. 51-53
80. Isenberg, H.D., Painter, B.G., Sampson-Scherer, J.,
Siegel, M.:
Clinical laboratory study of cephacetrile and
cephalothin against bacteria recently isolated
from clinical specimens
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 24, Nr. 9 b,
1456-1458 (1974)
81. Ishigami, J., Hara, S., Mita, T.:
Use of cefazolin in urinary-tract infections
Chemotherapy (Tokyo), 18, 749 (1970)
82. Ishiyama, S., Nakayama, I., Iwamoto, H., Iwai, S.,
Okui, M., Matsubara, T.:
Absorption, tissue concentration and organ
distribution of cefazolin
Antimicr. Agents Chemother., 476 (1970)
83. Jeljaszewicz, J.:
Antibiotics of choice for clinically
important bacteria
loc. cit. 63, p. 89-95

84. Jösch, W., Dubach, U.C.:
Einfluß der Diurese auf die Enzymurie
Clin. Chim. Acta, 15, 325-330 (1967)
85. Jost, R.:
Competitive peptide inhibitors of leucine
aminopeptidase:
Specific interaction of threonine (tertiary
butyl)-peptides with the enzyme from swine
kidney and from bovine eye lens
FEBS Letters, 29, 7-9 (1973)
86. Karney, W.W., Turck, M., Holmes, K.K.:
Cefazolin in the treatment of gonorrhea
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 399
(Oct. 1973)
87. Kashiwazak, H., Hirose, Y.:
Clinical application of cefazolin for
otorhinolaryngological infections
Chemotherapy (Tokyo), 18, 826 (1970)
88. Kawamura, T., Takahashi, H., Tomizawa, T.:
Laboratory and clinical study on cefazolin
Chemotherapy (Tokyo), 18, 795 (1970)
89. Kaye, D.:
Antibacterial activity of human urine
J. clin. Invest., 47, 2374-2390 (1968)
90. Kaye, D.:
Summary of symposium on cefazolin
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 422
(Oct. 1973)
91. Kinoshita, Y., Yamasaku, F., Tsuchida, R.,
Takeda, H., Usuda, Y.:
Fundamental and clinical studies on cefazolin
Chemotherapy (Tokyo), 18, 826 (1970)
92. Kirby, W.M.M., Reganey, C.:
Pharmacokinetics of cefazolin compared with
four other cephalosporins
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 341
(Oct. 1973)
93. Klastersky, J., Cappel, R., Swings, G.,
Vanderborre, L.:
Bacteriological and clinical activity of the
ampicillin/gentamycin and cephalothin/
gentamycin combinations
The Amer. J., 262, 283 (1971)

94. Klastersky, J., Hensgens, C., Debusscher, L. et al.:
Utilisation empirique de combinaisons
d'antibiotiques (ticarcilline-tobramycine,
céfalotine-tobramycine et ticarcilline-
céfalotine)
Nouv. Presse Med., 3, 80-83 (1974)
95. Klein, J.O., Eickhoff, T.C., Tilles, J.C.,
Finland, M.:
Cephalothin: Activity in vitro absorption
and excretion in normal subjects and clinical
observations in 40 patients
Amer. J. Med. Sci., 248, 640-641 (1964)
96. Kleinknecht, D., Ganeval, D., Droz, D.:
Acute renal failure after high doses of
gentamicin and cephalothin
Lancet I, 1129 (1973)
97. Kleinknecht, D., Jungers, P.:
Accident rénal aigu au cours d'un traitement
par la gentamycine et la cephalotine
Nouv. Presse méd., 2, 25-27 (1973)
98. Kley, R., Bahre, G., Holzhüter, H.:
Die Bestimmung der Gamma-glutamyl-transpep-
tidase im Urin von nierengesunden und nieren-
kranken Personen mit einer automatischen
kinetischen Methode
Z. klin. Chem. klin. Biochem., 11,
537-542 (1973)
99. Klose, J.:

Inaugural-Dissertation, in Vorbereitung,
Frankfurt am Main, Fachbereich Humanmedizin
100. Knothe, H.:
Tabellarium der Chemotherapie
Aesopus Verlag GmbH, Lugano, München (1976)
101. Knothe, H., Lauer, B.:
Die mikrobiologische Aktivität von Cephalotin,
Cephalexin, Cephacetril, Cephradine, Cephazolin
und Cephmandol
loc. cit. 63, p. 80-88
102. Knothe, H., Lauer, B.W., Hartel, W.:
Die Gallenausscheidung von Cephazolin
Infection, 2 (Supplement 1), 54 (1974)

103. Knüsel, F., Konopka, E.A., Gelzer, J.,
Rosselet, A.:
Antimicrobial studies in vitro with
cephacetrile, a new cephalosporin derivative
Antimicrob. Agents Chemother., 140-149 (1971)
104. Kokot, F., Sledzinski, Z.:
Die Gamma-glutamyltransferase
Z. klin. Chem. klin. Biochem., 12, 374-384
(1974)
105. Kosek, J.C., Mazze, R.J., Cousins, M.J.:
Nephrotoxicity of gentamycin
Lab. Invest., 30, 48-57 (1974)
106. Koser, B.:
Quantitative immunologische und enzymatische
Bestimmungen von Membranproteinen des proxi-
malen Tubulus im Urin; ihre Bedeutung für die
Progredienz der Glomerulonephritis
Inaugural-Dissertation, Frankfurt am Main,
Fachbereich Humanmedizin (1976)
107. Kozatani, J., Okui, M., Noda, K., Ogino, T.,
Noguchi, H.:
Cefazolin, a new cephalosporin antibiotic,
V. Distribution of cefazolin-¹⁴C in mice and
rats after parenteral administration
Chem. Pharm. Bull (Tokyo), 20, 1105 (1972)
108. Kradolfer, F., Ahrens, T., Gelzer, J., Vischer, W.,
Zimmermann, W.:
Experimentelle Auswertung des neuen Cephalosporin-Antibiotikums Cephacetril
Schweiz. med. Wschr., 103, 711-718 (1973)
109. Kradolfer, F., Sackmann, W., Zak, O., Brunner, H.,
Hess, R., Konopka, E.A., Gelzer, J.:
Cephacetrile: Chemotherapy and toxicology
in laboratory animals
Arzneim.-Forsch. (Drug.Res.), 24, Nr. 9 b,
1459-1462 (1974)
110. Kunin, C.M., Brandt, D.:
Comparative studies of ampicillin, cephalothin
and a new cephalosporinderivate, cephaloglycin
Amer. J. Med. Sci., 255, 196 (1968)
111. Landes, R.R.:
Cefazolin: A new cephalosporin antibiotic;
experience in genitourinary infections
loc. cit. 1

112. Lauer, K.:

Inaugural-Dissertation, in Vorbereitung,
Frankfurt am Main, Fachbereich Humanmedizin

112 Laurell, C.B.:

a. Electrophoretic and electroimmunochemical
analysis of proteins
Universitets Forlaget, Oslo, Norway, 1972

112 Laurell, C.B.:

b. Quantitative estimation of proteins by
electrophoresis in agarosegel containing
antibodies
Anal. Biochem., 15, 45-58 (1966)

113. Lee, C.C., Herr, E.B., Anderson, R.C.:

Pharmacological and toxicological studies
on cephalothin
Clin. Med., Vol. 70, No. 6 (1963)

114. Levison, M.E., Levison, S.P., Ries, K., Kaye, D.:

Pharmacology of cefazolin in patients with
normal and abnormal renal function
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 354
(Oct. 1973)

115. Lévy, A., Dubach, U.C.:

Gamma-glutamyl-transpeptidase-Aktivität
im Urin bei urorenalen Krankheiten
Klin. Wschr., 50, 438-441 (1972)

116. Lima, M.B.C.:

Celospor: Bacterial meningitis
Ciba Geigy, Ltd., Basle, Medical Department
PH 3.41 /Dr.NM/ez 3rd May, 1974

117. Lima, M.B.C., Lauro, E., Netto, A.R. Cunha, A.B.,
Polisuk, J., Albernatz, P.L.M., Bethlem, N.,
Santos, O.R., Sequeira, O.F., Aguinaga, S.,
Gomes, S.C.:

Multicentre trial with CIBA 36,278-Ba
in the treatment of severe infections
Folha méd., 66, 827-851 (1973)

118. Lima, M.B.C., Neto, E.C., Gorinstein, J., Casz, J.:

A preliminary communication on the use of
CIBA 36,278-Ba as monotherapy in the treat-
ment of purulent meningitis
Folha méd., 66, 309-316 (1973)

119. Limson, B.M., Santos, R.J.:
Cephalothin in the treatment of staphylococcal endocarditis and septicemia
Clin. Med., 75, 36 (1968)
120. Linton, A.L., Bailey, R., Turnbull, D.J.:
Relative nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics in an animal model
C.M.A. Journal, 107, 414-416 (Sept. 1972)
121. Lockwood, W.R., Bower, J.D.:
Studies on the serum concentration of cefazolin in normal and anephric subjects
loc. cit. 1
122. Lode, H., Naumann, P.:
Untersuchungen zur in vitro-Wirkung von Cephalotin, Gentamycin und ihrer Kombination gegen *Proteus mirabilis* und Enterokokken
loc. cit. 63, p. 36-41
123. Lomar, A.V., Galvao, P.A.A., Barretto, J.G.:
Cephacetril - Monotherapie bei purulenter Meningitis
In: Referate über Celospor, Ciba, Grünenthal
(IX. Internationaler Chemotherapie-Kongreß London, 13.-18. Juli 1975)
124. Luscombe, D.K., Nicholls, P.J., Owens, D.R., Russel, A.D.:
Pharmacokinetic studies in animals and humans of a new cephalosporin, the sodium salt of 7-cyanacetyl-amino-cephalosporanic acid
Antimicrob. Agents Chemother., 3, 677 (1973)
125. Lymberopoulos, S.:
Klinische Erfahrungen mit dem neuen Breit-spektrum-Antibiotikum "Cephalotin" in der Urologie
Med. Welt, 18, 1028 (1967)
126. Mackenrodt, G., Schröder, H.M., Mondorf, A.W., Scherberich, J.E., Schoeppe, W.:
Untersuchungen zur Wirkung von unterschiedlichen Pharmaka auf die Membranen des proximalen Tubulus der menschlichen Niere
Verh. dtsch. Ges. Inn.Med., 80, 673-675 (1974)

127. Maruna, R.F.L.:
Isoenzyme der Phosphomonoesterasen in Körperflüssigkeiten und Geweben. Untersuchungen von "sauren" und "alkalischen" Phosphatasen im Harn
Clin. Chim. Acta, 25, 133-138 (1969)
128. Matsumoto, K., Yokoyama, K., Arai, S., Nishioka, K., Nakamura, T.:
Laboratory studies and clinical application for bacterial infections of cefazolin especially on respiratory tract infections
Chemotherapy (Tokyo), 18, 552 (1970)
129. Mattenheimer, H.:
Der Aussagewert von Enzymbestimmungen im Urin
In: Praktische Enzymologie. Hrsg. v. H. Aepli, H. Mattenheimer und F.W. Schmidt. Bern, Stuttgart 1968, S. 355 (=aktuelle Probleme der klinischen Biochemie Bd. 1)
130. Maurice, P.N., Riess, W., Welke, A., Amson, K.:
Celospor (C 36278-Ba), ein neues Antibiotikum aus der Cephalosporinreihe: Pharmakokinetik und klinische Prüfung
Schweiz. med. Wschr., 103, 718-724 (1973)
131. McCloskey, R.V., Forland, N.E., Sweeny, M.J., Lawrence, N.:
Hemodialysis of cefazolin
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 358 (Oct. 1973)
132. McMullan, M.H., Barnett, W.O.:
The clinical use of intraperitoneal cephalotin
Surgery, 67, 432 (1970)
133. Medeiros, A.A., O'Brien, T.F.:
Mechanisms of resistance to cephalosporins in ampicillin-resistant Escherichia coli
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 335 (Oct. 1973)
134. Merril, S.L., Davis, A., Smolens, B., Finegold, M.:
Cephalotin in serious bacterial infection
Ann. Intern. Med., 17, 97 (1966)
135. Meyer-Brunot, H.G.:
Celospor: Konzentration im Liquor cerebrospinalis bei bakterieller Meningitis und bei gesunden Meningen
Pharmakologisch-chemische Synopsis von Celospor Kapitel 10: Verteilung, Teilkapitel: 10.4

136. Meyer-Brunot, H.G., Schenk, C., Lomar, A.V.:
Humanpharmakokinetische Untersuchungen über
die Penetration von Cephacetril in den
Liquor cerebrospinalis
loc. cit. 123
137. Meyer-Brunot, H.G., Schenk, C., Schmid, K.,
Spring, P., Theobald, W., Wagner, J.:
Einige Aspekte zur Pharmakokinetik von
Celospor, insbesondere Liquorgängigkeit
Wiener med. Wschr., 45, (Supplement 27)
(1975)
138. Middleman, E.L., Watanabe, A., Kaizer, H.,
Bodey, G.P.:
Antibiotic combinations for infections in
neutropenic patients, - Evaluation of
carbenicillin plus either cephalothin or
kanamycin
Cancer, 30, 573 (1972)
139. Mioli, V., Vangelista, Albertazzi, A., Bortolotti,
Bonomini, V.:
Renal effects of CIBA 36,278-Ba in man, in
healthy and diseased subjects
loc. cit. 36, p. 487-488
140. Mikuni, M., Ohishi, M., Suda, S., Imai, M.,
Takahashi, T., Takizawa, H.:
Ophthalmic use of cefazolin (abstract)
Chemotherapy (Tokyo), 18, 811 (1970)
141. Miranda, M.P., Ibarrola, S.:
Enzimologia urinaria. 1. Determinacion de
la enzimuria normal de origen parenquimatoso
renal (LDH, LAP y FA)
Rev.Clin.Esp., 133, 303-310 (1974)
142. Mogabgab, W.J.:
Treatment of acute infections in
hospitalized patients with cefazolin
Clin. Med., 80, 27-30 (Nov. 1973)
143. Mondorf, A.W.:
Das Auftreten von Membranproteinen im Harn
bei Erkrankungen der Niere
Arzneim.-Forsch. (Drug.Res.) 25, 274 (1975)

144. Mondorf, A.W.:
Der Nachweis tubulärer Proteine im Harn bei
entzündlichen und toxischen Nierenschädi-
gungen
Wiener med. Wschr., 45, Suppl. 27,
20-30 (1975)
145. Mondorf, A.W.:
Die Bedeutung lokalisationsspezifischer
Enzyme im Harn für toxikologische und
klinisch-pharmakologische Untersuchungen
Arzneim.-Forsch. (Drug.Res.) 23, 1634-1637
(1973)
146. Mondorf, A.W., Carpenter, C.B., Scherberich, J.E.:
Immunologischer Nachweis von Membranproteinen
des proximalen Tubulus als Parameter für die
akute Abstoßungsreaktion nach allogener Nie-
rentransplantation beim Menschen
Verh. dtsh. Ges. Inn. Med. 79, 690-692
(1973)
147. Mondorf, A.W., Carpenter, C.B., Scherberich, J.E.:
Specific tubular histuria following
renal transplantation
Protides of the Biolog. Fluids (Brugge),
21st Colloquium, Pergamon Press,
Oxford/New-York 1973, S. 493-495
148. Mondorf, A.W., Carpenter, C.B., Scherberich, J.E.,
Merill, J.:
Brush border proteins in urine after human
kidney transplantation and acute renal
failure
V. Intern. Congr. Nephrol. (Mexico) 1972
149. Mondorf, A.W., Kinne, R., Scherberich, J.E.,
Falkenberg, F.:
Isolierung, enzymatische und immunologische
Charakterisierung einer Plasmamembranfraktion
vom proximalen Tubulus der menschlichen
Niere
Clin. Chim. Acta 37, 25-32 (1972)
150. Mondorf, A.W., Mackenrodt, G., Scherberich, J.E.,
Lauer, K., Zarifi, N., Schoeppe, W.:
Ausscheidungsmuster von Zellmembranprotein
aus dem proximalen Tubulus bei Pyelonephri-
tis und toxischer Nierenschädigung
Verh. dtsh. Ges. Inn. Med., 80,
777-779 (1974)

151. Mondorf, A.W., Scherberich, J.E., Reitinger, W.:
Quantitative immunological determination
of brush-border protein in urine
Their role in the progression of inflamma-
tory and toxic renal damage
Contr. Nephrol., 1, 119-125
(Karger, Basel 1975)
152. Mondorf, A.W., Schoeppe, W.:
Klinik der Abstoßungsreaktion: Bürstensaum-
proteine im Urin als Indikator
"Immunsuppression bei Nierenerkrankungen"
Symposium Nürnberg 1972
153. Morales, F.M.:
Ciba 36,278-Ba en el tratamiento de los
padecimientos bacterianos agudos del
pulmón
Sem. méd.Méx., 67 (10), 309-316 (1971)
154. Müller, S., Wiesendanger, V., Wegmann, W.,
Scheitlin, W., Moccetti, T.:
Akutes Nierenversagen durch Cephalotin?
Schweiz. med. Wschr. 103, 889-894 (1973)
155. Naber, K.:
Experimentelle und klinische Untersuchungen
mit Celospor bei Nierenerkrankungen
Wiener med. Wschr., 45 Suppl. 27 (1975)
156. Naber, K.G., Meyer-Brunot, H.G., Reitz, J.:
Plasma-Konzentration von Cephacetril
während und nach intravenöser Infusion
loc. cit. 123
157. Nakazawa, S., Oka, S., Sato, H., Okubo, Y.,
Watanabe, O., Imai, S., Chikaoka, H.,
Murata, F., Nemoto, H., Arai, K.:
Studies on cefazolin in pediatric field
Chemotherapy (Tokyo), 18, 659 (1970)
158. Naumann, P.:
Cephazolin - Antibakterielle und pharmako-
kinetische Eigenschaften im Vergleich zu
anderen Cephalosporinen
loc. cit. 63
159. Naumann, P., Reintjens, E.:
Antibacterial activity and pharmacokinetic
behaviour of cephazolin as compared with
5 other cephalosporin antibiotics
loc. cit. 1

160. Nelson, M.:
Cefazolin in the treatment of uncomplicated gonorrhea in men
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 404 (Oct. 1973)
161. Neu, H.C., Winshell, E.B.:
In vitro evaluation of cephacetrile, a new cephalosporin antibiotic
J. Antibiot. (Tokyo), 25, 400 (1972)
162. Nicholas, P., Meyers, B.R., Hirschmann, S.Z.:
Pharmacology of cefazolin in human volunteers
J. Clin. Pharmacol., 13, 325 (1973)
163. Nishida, M., Matsubara, T., Murakawa, T., Mine, Y., Yokoto, Y.:
Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic.
II. In vitro and in vivo antimicrobial activity
J. Antibiot., 23, 137 (1970)
164. Nishida, M., Matsubara, T., Murakawa, T., Mine, Y., Yokoto, Y.:
Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic
III. Absorption, excretion and tissue distribution in parenteral administration
J. Antibiot., 23, 184 (1970)
165. Nishida, M., Matsubara, T., Murakawa, T., Mine, Y., Yokoto, Y., Kuwahara, S., Goto, S.:
In vitro and in vivo evaluation of cefazolin, a new cephalosporin C derivative
Antimicrob. Agents Chemother., 9, 236 (1969)
166. Nissemson, A.R., Levin, N.W., Parker, R.H.:
Der Einfluß von Niereninsuffizienz und Hämodialyse auf die Pharmakokinetik von Cephacetril
Arzneim.-Forsch (Drug.Res.) 24, Nr. 9 b (1974)
167. Nola, F.di, Soranzo, M.L.:
Comparative trial celospor versus cephaloridine in the treatment of respiratory infections in childhood
Arzneim.-Forsch. (Drug.Res.) 24, 9 b, 1510-1512 (1974)

168. Noone, P., Pattison, J.R., Shafi, M.S.:
Acute renal failure after high doses of
gentamicin and cephalothin
Lancet, I., 1387-1388 (June 1, 1973)
169. Norden, C.W.:
Experimental osteomyelitis
II. Therapeutic trials and measurement of
antibiotic levels in bone
J. Infect. Dis., 124, 565 (1971)
170. Nosal, T., Kiser, W.S., Robitaille, M.L.,
King, J.W.:
Urine alkaline phosphatase and lactic
dehydrogenase activity in the diagnosis
of urologic neoplasms
Clin. Chem, 12, 542 (1966)
171. Nuri, M., Peters, H.J.:
Klinischer Erfahrungsbericht über die Be-
handlung von Harnwegsinfektionen mit
Cephazolin
loc. cit. 63, p. 118-122
172. Ohkoshi, M., Naide, Y., Iwata, S., Oda, M.,
Suzuki, K.:
Laboratory and clinical studies on cefazolin
Chemotherapy (Tokyo) 18, 734 (1970)
173. Opitz, H., v. Herrath, D., Schaefer, K.:
Akute Niereninsuffizienz nach Gentamycin-
Cephalosporin-Kombinationstherapie
Med. Welt, 22, Heft 11, 434-438 (1971)
174. Opitz, A., Knoop, H., Kraft, D., Offermann, G.,
Schaefer, K., v. Herrath, D.:
Treatment of chronic kidney infections with
the cephalosporin derivate CIBA 36,278-Ba
loc. cit. 36, p. 1345-1346
175. Pasternak, D.P., Stephens, B.G.:
Reversible nephrotoxicity associated with
cephalothin therapy
Arch. Intern. Med., 135, 599-602
(April 1975)
176. Patel, S., O'Gorman, P.:
Demonstration of serum gamma-glutamyl-trans-
peptidase isoenzymes using cellogel electro-
phoresis
Clin. Chim. Acta, 49, 11-17 (1973)

177. Perkins, R.L., Apicella, M.A., Lee, J.,
Cuppage, F.E., Saslaw, S.:
Cephaloridine and cephalothin:
Comparative studies of potential
nephrotoxicity
Am. J. Labs. Clin. Med. 7, 75-84 (1968)
178. Perkins, R.L., Saslaw, S.:
Experiences with cephalothin
Amer. Int. Med. 64, 13 (1966)
179. Peters, J.E., Schneider, I., Haschen, R.J.:
Bestimmung der L-Alanyl-Peptidhydrolase
(Alanin-Aminopeptidase, Aminosäure-
arylamidase) im menschlichen Harn
Clin. Chim. Acta, 36, 289-301 (1972)
180. Phair, J.P., Carleton, J., Tan, J.S.:
Comparison of cefazolin, a new cephalosporin
antibiotic with cephalothin
Antimicrob. Agents. Chemother., p. 329 (1972)
181. Pickering, L.K., O'Connor, D.M., Anderson, D.,
Bairan, A.C., Feigin, R.D., Cherry, J.D.:
Clinical and pharmacologic evaluation
of cefazolin in children
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 407
(Oct. 1973)
182. Pickering, M.J., Spooner, G.R., Quesada, A.,
Cade, J.R.:
Declining renal function associated
with administration of cephalothin
South. Med. J., 63, 426-428 (1970)
183. Pulverer, G.:
Situationsbericht zur Resistenzlage der
klinisch wichtigsten Erreger in der Bundes-
republik
loc. cit. 63, p. 21-32
184. Quinn, E.L., Pohlod, D., Madhavan, T.,
Burch, K., Fisher, E., Cox, F.:
Clinical experiences with cefazolin and
other cephalosporins in bacterial
endocarditis
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 386
(Oct. 1973)
185. Raab, W.P.:
Diagnostic value of urinary enzyme deter-
minations
Clin. Chem., 18, 5-25 (1972)

186. Raab, W.P.:
Die diagnostische Bedeutung der Bestimmung
von Harnenzymaktivitäten
Z.klin.Chem.klin.Biochem., 9, 143-154
(1971)
187. Raab, W.P.:
Enzymes and isoenzymes in urine
In: Enzymes in urine and kidney
Hrsg. v. H. Aepli, H. Mattenheimer, F.W.
Schmidt, Bern 1968
(=Current problems in clinical
biochemistry)
188. Raab, W., Wörth, C.:
Inhibition of alkaline phosphatase activity
by D-penicillinamine
Z.klin.Chem.klin.Biochem., 12, 309-310
(1974)
189. Rübner, J.A.:
Die Elimination der 7-Cyanacetamido-
Cephalosporin-Säure in Patienten mit normaler
und mit eingeschränkter Nierenfunktion
Inaugural-Dissertation, Med. Fak. Basel (1971)
190. Raff, M.J., Rogers, J.H., Smithivas, T.,
Toney, P.B.:
Cefazolin in the treatment of pneumococcal
pneumonia
loc. cit. 1
191. Rahal, J.J., Meyers, B.R., Weinstein, K.:
Treatment of bacterial endocarditis with
cephalothin
New Engl. J. Med., 279, 1305 (1968)
192. Ram, M.D., Watanatittan, S.:
Levels of cefazolin in human bile
J. Infect. Dis., 128 (Supplement),
361 (Oct. 1973)
193. Regamey, C., Gordon, R.C., Kirby, W.M.M.:
Cefazolin vs cephalothin and cephaloridine
Arch. Intern. Med., 133, 407-410 (1974)
194. Reilich, H.:
Erfahrungen mit Cefalotin
Zbl. Chir., 93, 613 (1968)

195. Rein, F.M., Westervelt, F.B., Sande, M.A.:
Pharmacodynamics of cefazolin in the
presence of normal and impaired renal
function
Antimicrob. Agents Chemother., p. 366-371
(Sept. 1973)
196. Reinartz, J.A., Kier, C.M., Guckian, J.C.:
Evaluation of cefazolin in the treatment
of bacterial endocarditis and bacteremia
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 392
(Oct. 1973)
197. Reller, L.B., Karney, W.W., Beaty, H.N.,
Holmes, K.K., Turci, M.:
Evaluation of cefazolin, a new cephalo-
sporin antibiotic
Antimicrob. Agents Chemother., 3, 488 (1973)
198. Reutter, F., Maurice, N.P.:
Serum half-lives and elimination rates of
a new semi-synthetic cephalosporin,
CIBA 36,278-Ba, in nephrectomized patients
and in patients with impaired or normal
renal function
loc. cit. 36, p. 59-61
199. Richmond, M.H., Jack, G.W., Sykes, R.B.:
The β -lactamase of gram-negative bacteria
including pseudomonas
Ann. Acad. Sci., 182, 243-257 (1971)
200. Riediker, J., Schäfer, R.:
Kasuistischer Beitrag zum Problem der Chemo-
therapie chronischer Bakteriurie
Praxis, 57, 1424 (1968)
201. Ries, K., Levison, M.E., Kaye, D.:
Clinical and in vitro evaluation of cefazolin,
a new cephalosporin antibiotic
Antimicrob. Agents Chemother., 3, 168 (1973)
202. Ritzerfeld, W., Stromberg, H.:
Untersuchungen zur antibakteriellen Wirkung
von Cephalotin
Arzneimittelforschung, 16, 1219 (1966)
203. Rosselet, A., Knüsel, F., Zimmermann, W.:
Susceptibility of 6 derivatives of 7-
cyanoacetamido cephalosporanic acid to
hydrolysis by the β -lactamase of E. coli RTEM
loc. cit. 36

204. Roux, B.T.:
Use of sodium cephalothin in the
management of lung gangrene
Thorax, 26, 551 (1971)
205. Russel, A.D.:
Interaction of a new cephalosporin, 7-cyanacet-
amido-cephalosporanic acid, with some gram-
negative and gram-positive β -lactamase producing
bacteria
Antimicrob. Agents Chemother., 2, 255 (1972)
206. Russel, A.D.:
In vitro studies with Ciba 36,278-Ba, a new
cephalosporin derivative
Microbios, 6, 221-230 (1972)
207. Russel, A.D.:
Laboratory studies on a new cephalosporin,
Ciba 36,278-Ba
loc. cit. 36
208. Russel, A.D., Furr, J.R.:
The relative susceptibility of four cephalosporins to a beta-lactamase from *Bacillus cereus*
J. Chir. Path., 26, 599-603 (1973)
209. Sabath, L.D., Wilcox, C., Garner, C.,
Finland, M.:
In vitro activity of cefazolin against recent
clinical bacterial isolates
J. Infect. Dis., 128, (Supplement), 320
(Oct. 1973)
210. Sachs, L.:
Angewandte Statistik. Planung und Auswertung,
Methoden und Modelle
Berlin, Heidelberg, New York (Springer)
1974, 4. Aufl.
211. Sack, K.:
Tierexperimentelles Modell zur Testung der
Nephrotoxizität von Antibiotika
loc. cit. 123
212. Saslaw, S., Carlisle, H.N.:
Studies on therapy of staphylococcal infections
in monkeys. VIII. Comparison of Cephalothin,
cephaloridine, cefazolin, cephacetrile, and
cephanone
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 373
(Oct. 1973)

213. Sauerwein, D., Naber, K.:
Renale Toleranz und Clearance von Cephazolin
loc. cit. 63
214. Scherberich, J.E.:
Untersuchungen zum Problem der Gewebsprotein-
ausscheidung (Histurie): Isolierung, bioche-
mische und immunologische Charakterisierung
segmentspezifischer Tubulusantigene aus der
menschlichen Niere
Inaugural-Dissertation, Universitätsklinik
Frankfurt am Main, 1972
215. Scherberich, J.E., Falkenberg, F., Mondorf, A.W.,
Müller, H., Pfeleiderer, G.:
Biochemical and immunological studies on
isolated brush border membranes of human
kidney and their membrane surface proteins
Clin. Chim. Acta, 55, 179-197 (1974)
216. Scherberich, J.E., Mondorf, A.W., Falkenberg, F.,
Pfeleiderer, G.:
Charakterisierung und Identifizierung krankheits-
relevanter Gewebsantigene der menschlichen
Niere
Verh. dtsh. Ges. inn. Med., 80, 767-769
(1974)
217. Scherberich, J.E., Mondorf, A.W.:
Immunochemical studies on membrane surface
proteins of human kidney by Con-A-affinity
chromatography
Prot. Biol. Fluids, 23, 575 (1975)
218. Schulte, R.M.:
Untersuchungen zur postoperativen Histurie
und Proteinurie
Inaugural-Dissertation, Frankfurt am Main,
Fachbereich Humanmedizin (1976)
219. Schulte-Lippert, M., Freyland, M.D., Frotscher, U.,
Jenett, G., Messerschmidt, W., Richter, R.,
Zschaegge, B., Wilbrand, R.:
Akutes Nierenversagen nach hochdosierter
Cephalotinbehandlung
Med. Klin., 68, Nr. 7, 202-206 (1973)
220. Seiga, K., Yamaji, K., Miyoshi, K.,
Minagawa, M.:
Laboratory and clinical studies on cefazolin,
a new derivate of semisynthetic cephalosporin
Int. J. Clin. Pharmacol., 6, 135 (1972)

221. Shark, P.M., Helm, E.B., Stille, W.:
Klinische Erfahrungen mit Cefazolin
Infection, 2, Suppl. 1, 83 (1974)
222. Shibata, K., Fujii, M.:
Clinical studies of cefazolin in the
surgical field
Antimicrob. Agents Chemother., p. 467 (1970)
223. Shimizu, K., Kunii, O., Okumura, A.:
Laboratory and clinical studies of
cefazolin
Chemotherapy, 18, 559 (1970)
224. Silverblatt, F., Harrison, W.O., Turck, M.:
Nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics
in experimental animals
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 367
(Oct. 1973)
225. Simon, C., Malerczyk, V., Bramstaedt, E.,
Toeller, W.:
Cefazolin, ein neues Breitspektrum-
Antibiotikum
Dt. Med. Wschr., 51, 2448 (1973)
226. Simon, C., Möhlenbeck, F.:
Cephazolin-Spiegel im Intra- und
Extravasalraum
loc. cit. 63, p. 96
227. Simpson, J.:
Nephrotoxicity and acute renal failure
associated with cephalothin and
cephaloridine
N.Z.med. J., 74, 312 (1971)
228. Simrock, A.:

Inaugural-Dissertation, Frankfurt am Main,
Fachbereich Humanmedizin (in Vorbereitung)
229. Smith, E.B.:
Intraperitoneal cephalothin as adjuvant
therapy in peritonitis
J. Nat. Med. Ass., 64, 109 (1972)
230. Southern, P.M., Sanford, J.P.:
Meningococcal meningitis - Suboptimal
response to cephalotin therapy
New. Engl. J. Med., 280, 1163 (1968)

231. Spitzzy, K.H.:
Die Bedeutung der Cephalosporine im Rahmen
der Antibiotika
Wiener med. Wschr., 45, Suppl. 27, 4-6
(1975)
232. Spring, P.:
Celospor: Bacterial meningitis
Ciba Geigy, Ltd, Basle, Medical Department
PH 3.41/Dr. NM/ez, 3rd May, 1974
233. Spring, P., Räber, J., Reber, H., Dettli, L.:
Die Elimination des Antibiotikums Cephace-
tril bei Patienten mit eingeschränkter
Nierenfunktion
Schweiz. med. Wschr., 103, 783-788 (1973)
234. Stille, W.:
Indikationen und Gefahren der kombinierten
Cephalothin-Gentamycin-Therapie
loc. cit. 63, p. 54-60
235. Stille, W., Arndt, I.:
Argumente gegen eine Nephrotoxizität von
Cephalothin und Gentamycin
Med. Welt, 23, Heft 44, 1603-1605 (1972)
236. Stocke, O.:
Preservation of gamma-glutamyl-transpepti-
dase activity in human urine
Clin.Chim. acta, 57, 143-148 (1974)
237. Swiet, M., Louvois, J., Hurley, R.:
Failure of cephalosporins to prevent
bacterial endocarditis during labour
Lancet (July 1975)
238. Szasz, G., Baranyai, P., Czirbesz, Z.S.,
Czáki, P.:
Über die Enzymurie bei nephrotischem
Syndrom
Klin. Wschr., 43, 783-788 (1965)
239. Szewczuk, A.:
A soluble form of gamma-glutamyl-transpepti-
dase in human tissues
Clin. Chim. Acta, 14, 608-614 (1966)

240. Takasu, T., Baba, S., Mamiya, A., Ohashi, M,
Yokoi, T.:
Laboratory and clinical studies on
cefazolin in oto-rhino-laryngological
field
Chemotherapy (Tokyo), 18, 803 (1970)
241. Tanioku, K., Arata, Z., Tokumara, S.,
Kodama, H.:
Use of cefazolin in dermatology
Chemotherapy (Tokyo), 18, 803 (1970)
242. Terell, Ch.J., Grenshaw, Ch.:
Cephalothin as a preventive antibiotic
Southern Med. J., 63, 1088 (1976)
243. Terhorst, B., Lymberopoulos, S., Buss, H.:
Tierexperimentelle und klinische Unter-
suchungen zur Frage der Nephrotoxizität
von Cephaloridin
Med. Welt, 22, Heft 40, 1565-1569 (1971)
244. Thiele, K.G.:
Gamma-glutamyltranspeptidase-Aktivität
von Serum und Urin bei Gesunden und
Nierenkranken
Klin. Wschr., 51, 339-346 (1973)
245. Thoburn, R., Fekety, F.R.:
Combined therapy with cephalotin,
kanamycin and colistin in patients
with presumed bacteremia
J. Chron. Dis., 22, 593 (1970)
246. Turck, M., Clark, R.A., Beaty, H.N., Holmes, K.K.,
Karney, W.W., Reller, L.B.:
Cefazolin in the treatment of bacterial
pneumonia
J. Infect. Dis., 128 (Supplement), 382
(Oct. 1973)
247. Ueda, Y., Matsumoto, F., Nakanura, N., Saita, A.,
Noda, K., Kobayashi, C., Ohmori, M.:
A study on cefazolin
Chemotherapy (Tokyo), 18, 564 (1970)
248. Venuto, R.C.:
Failure to demonstrate nephrotoxicity of
cephalothin in rabbits with reduced
renal function
Proc. Soc. 139, 1065 (1972)

249. Wachsmuth, E.D.:
Vergleichende Untersuchungen zur
Wirkungsweise von Aminopeptidasen
Biochem. Z., 344, 361-374 (1966)
250. Wachsmuth, E.D., Fritze, J., Pfeleiderer, G.:
An aminopeptidase occurring in pig kidney
I. An improved method of preparation
Physical and enzymic properties
Biochemistry, 2, 169-174 (1966)
251. Walter, A.M., Heilmeyer, L.:
Antibiotikafibel
Antibiotika und Chemotherapie
Stuttgart, Thieme-Verlag, 4. Auflage
(1975)
252. Walters, C.L.:
A competitive alkaline phosphatase inhibitor
from extracts of normal male urines
Enzymologia, 20, 33-56 (1958)
253. Warren, E.C., Wacker, E.C., Amador, E.,
Dorfman, L.E., Zimmermann, Th.S.:
Eine Methode zur Bestimmung und diagnostischen
Anwendung der Laktatdehydrogenase und alkali-
schen Phosphatase im menschlichen Urin
Ärztl. Lab., 11, 204-213 (1965)
254. Weippel, G.:
Die klinische Bedeutung der Cephalosporine
im Kindesalter
Wiener med. Wschr., 45, Suppl. 27 (1975)
255. Weissbach, L., Trümers, H., Ritzerfeld, W.:
Pyelonephritis-Behandlung mit Gentamycin-
Cephalotin
Münch. Med.Wschr., 113, 265-269 (1971)
256. Wellwood, J.M., Lovell, D., Thompson, A.E., et al.:
Renal damage caused by gentamycin
Br. med. J., 2, 613 (1974)
257. Wellwood, J.M., Tighe, J.R.:
Evidance of gentamycin nephrotoxicity
in patients with renal allografts
Br. J. Surg., 62 (2), 156 (1975)
258. Westenfelder, S.R., Naber, K.G., Madsen, P.O.:
Pharmacokinetics of a new cephalosporin,
cephacetrile, in patients with normal and
impaired renal function
Infection, 1, 157 (1973)

259. Wirth, K.:
Die antibiotische Therapie schwerer bakterieller Krankheiten der inneren Medizin (Sepsis, Meningitis, Endokarditis)
Deutsch. Med. J., 23, 275-280 (1972)
260. Wirth, K.:
Pharmakokinetik von Cephalosporinen
Inn. Med., 2, 41-47 (1975)
261. Wise, R., Reeves, D.S., Hepburn, P.R.:
Cephacetrile, a new cephalosporine, in the treatment of urinary tract infections
Chemotherapy, 20, 177-182 (1974)
262. Wise, Reeves, D.S., Path, M.R.C.:
Pharmacological studies on cephacetrile in human volunteers
Curr. med. Res. Opin., 2, 249-255 (1974)
263. Wyss, G.:
Celospor: Bacterial meningitis
Ciba Geigy, Ltd., Basle, Medical Department
PH 3.41/Dr. NM/ez, 6th May, 1974
264. Yamaguchi, M.:
Clinical study on the efficacy of cefazolin and its influence on renal function (translation)
Shinyaku to Rinsho, 22, 125 (1973)
265. Zech, P., Beruard, M., Pozet, N., Traeger, J.:
Efficacité et tolerance renale d'un nouvel antibiotique: le CIBA 36,278-Ba
Lyon méd., 229, 11, 1161-1165 (1973)
266. Zimmermann, W., Knüsel, F., Rosselet, A.:
The lytic and bactericidal effect of derivatives of 7-cyanacetamido-cephalosporanic acid
loc. cit. 36, p. 1063-1065

LEBENS LAUF

Ich wurde am 8. März 1954 als Sohn der Eheleute Wolf Zegelman und Magdalena Zegelman, geb. Lücke in Frankfurt am Main geboren. Nach dem Besuch der Grundschule in Neu-Isenburg (Brüder-Grimm-Schule, 1060 - 1964) wechselte ich auf das dortige Gymnasium, die Goetheschule.

1969 wurde ich vom Hessischen Ministerpräsidenten mit der Lebensrettungsmedaille ausgezeichnet. Im selben Jahr erhielt ich den Golddukaten der Goetheschule.

Im Juni 1972 legte ich die Reifeprüfung ab. Danach folgte im Wintersemester 1972/73 an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz ein Studium der Biologie und Physik für ein Semester, welches mir für mein Medizinstudium ab dem Sommersemester 1973 an der Universität Düsseldorf angerechnet wurde. Die Vorärztliche Prüfung bestand ich im August 1974, den 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im August 1975. Vom Wintersemester 1975/76 an setzte ich das Studium der Medizin an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt am Main, fort. Dort fertigte ich von November 1975 bis Januar 1977 meine Dissertation an. Den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung legte ich im August 1977, den schriftlichen Teil des 3. Abschnittes der Ärztlichen Prüfung im Oktober 1978 in Frankfurt am Main und den mündlichen Teil im November 1978 in Offenbach am Main ab.

Neu Isenburg, im November 1978

Max Zegelman

Ehrenwörtliche Erklärung:

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Untersuchungen der Harnaktivitäten dreier Leitenzyme des proximalen Tubulus der Niere zur Frage der Nephrotoxizität von Cephacetril, Cephalotin und Cephazolin

Der enzymatische und immunologische Nachweis der Alanin-Amino-Peptidase im Urin als Parameter toxischer Nierenschädigungen

im Zentrum der Inneren Medizin der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. A. W. Mondorf mit Unterstützung durch Herrn Dr. med. G. Mackenrodt ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich Humanmedizin ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 8. Januar 1977

Max Jeggelman

